

Le Sel et les Microbes

THÈSE

*présentée et soutenue publiquement le Mars 1927
à la Faculté de Pharmacie de Nancy*

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Pharmacie)

PAR

LUDOVIC TATTEVIN 

Pharmacien de Première Classe

né à MESQUER (Loire-Inférieure) le 5 Novembre 1892

Examineurs de la Thèse

MM. BRUNTZ, Doyen de la
Faculté, Président.

LASSEUR }
SEYOT } Juges.

VANNES

IMPRIMERIE A. COMMELIN

12, RUE DE LA MONNAIE, 12

—
1927

Le Sel et les Microbes

THÈSE

*présentée et soutenue publiquement le Mars 1927
à la Faculté de Pharmacie de Nancy*

POUR OBTENIR LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Pharmacie)

PAR

LUDOVIC TATTEVIN 

Pharmacien de Première Classe

né à MESQUER (Loire-Inférieure) le 5 Novembre 1892

Examineurs de la Thèse	{	MM. BRUNTZ, Doyen de la	
		Faculté, Président.	
		LASSEUR {	Juges. .
		SEYOT	}

VANNES

IMPRIMERIE A. COMMELIN

12, RUE DE LA MONNAIE, 12

1927

Doyen : M. BRUNTZ, ✱, ☼, I ☼, o ☼, ✚ ✚.

Assesseur : M. PASTUREAU ✱, ☼.

PROFESSEURS :

MM. FAVREL, ✱, I ☼.....	Chimie organique.
GRÉLOT, ✱, I ☼, ☼.....	Pharmacie galénique.
BRUNTZ, ✱, ☼, I ☼, o ☼, ✚ ✚.....	Matière médicale.
DOURIS, ☼ ☼ ✚.....	Toxicologie et Analyse chimique.
PASTUREAU, ✱, ☼.....	Pharmacie chimique.
SEYOT, ✱, ☼, I ☼, ☼.....	Histoire naturelle.
LASSEUR, I ☼, ☼.....	Microbiologie.

AGRÉGÉ LIBRE :

M. GIRARDET, I ☼.....	Chimie et Toxicologie.
-----------------------	------------------------

CHARGÉS DE COURS :

MM. FAVREL, ✱, I ☼.....	Chimie minérale et Minéralogie
GRÉLOT, ✱, I ☼, ☼.....	Hydrologie.
BRUNTZ, ✱, ☼, I ☼, o ☼, ✚ ✚.....	Zoologie.
DOURIS, ✱, ☼, ✚.....	Chimie biologique.
RENARD, I ☼.....	Législation et Déontologie.
VERNIER, I ☼.....	Hygiène.
PILLOT, I ☼.....	Physique.

CHEFS DE TRAVAUX :

MM. VERNIER, I ☼.....	Microbiologie et Parasitologie.
GILLOT, I ☼.....	Pharmacie.
CORDEBARD, ☼, ☼.....	Toxicologie, Chimie, Analyse chimique.
STEIMETZ.....	Micrographie.
PILLOT, I ☼, chargé d. trav..	Physique.

SECRÉTARIAT :

MM. BERTRAND, I ☼.....	Secrétaire.
ROVEL, ✱, I ☼.....	Secrétaire en disponibilité.



La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

A MA FEMME ET A MES ENFANTS

BIEN-AIMÉS

A MA FAMILLE

A MES AMIS

1927

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR BRUNTZ
DOYEN DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LASSEUR
PROFESSEUR DE MICROBIOLOGIE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SEYOT
PROFESSEUR D'HISTOIRE NATURELLE
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

AVANT-PROPOS

Tout le long de la côte du pays de GUÉRANDE, on aperçoit les marais salants les plus importants de l'ouest de la France. C'est un curieux panorama qui laisse une impression étrange : les effets de lumière sur ces grands miroirs réfléchissant le ciel nuageux de Bretagne sont souvent merveilleux, surtout au crépuscule. C'est par excellence le pays blanc : *Wen-ran*, le pays du sel.

Originaire de la presqu'île guérandaise, nous avons été tenté par l'étude de sa principale richesse : le sel.

Nous n'ignorons pas certains travaux publiés sur ce sujet, notamment par M. HORVÉNO au point de vue juridique (1) et par notre excellent ami M. G. TATTEVIN au point de vue économique (2). La question, restée entière sur le terrain microbiologique, nous fournissait l'objet d'une thèse ; c'est pourquoi nous avons entrepris ce travail.

Cette tâche nous fut facilitée par le cordial accueil de M. le Professeur BRUNTZ, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Nancy, à qui nous exprimons nos sentiments de vive gratitude.

C'est au laboratoire de Microbiologie de la Faculté que nous avons entrepris cette thèse. Nous désirons, ici, manifester à M. le Professeur LASSEUR qui dirige ce laboratoire nos sincères remerciements et notre pro-

(1) CLAIR HORVÉNO, Docteur en Droit, Avocat près le Tribunal civil de Saint-Nazaire. *Les Marais salants de la Presqu'île Guérandaise. Etude historique, juridique et économique*. Giard et Brière. Paris. 1904.

(2) GEORGES TATTEVIN, *Le Sel, L'impôt sur le sel et l'Industrie salicole considérée particulièrement dans la région Guérandaise*. Biroche et Dautais. Nantes, 1913.

fonde reconnaissance, lui qui accueillit en nous l'ancien combattant d'une manière particulièrement bienveillante, et qui voulut bien accepter la direction de nos travaux.

Nous remercions sincèrement M. le Professeur SEYOT qui accepta si aimablement de faire partie de notre jury.

Dans le cours de cette étude, nous avons présenté diverses expériences faites à Nantes, en collaboration avec MM. le Professeur RAPPIN, Directeur de l'Institut Pasteur, et son préparateur LOUIS SOUBRANE, que nous ne saurions trop remercier de leur aide précieuse dans nos recherches microbiologiques. Nous saluons enfin la mémoire de notre regretté confrère M. THOMAS GROSSE-
RON, qui, dès la première heure, nous fit profiter de son expérience mettant à notre disposition ses nombreux échantillons de sel, tout en nous prodiguant les conseils les plus autorisés.

Maintes fois, au cours de ce travail, nous revint à la mémoire la chanson de Saillé, chantée dans notre enfance, que nous ne saurions passer sous silence, car, au fond, elle nous inspira peut-être notre sujet :

- « Je suis le petit grain de sel »
- « Enfant de l'Océan immense »
- « Liquide encore, je me balance »
- « Dans son vaste sein maternel (1) ».

(1) *Le Grain de Sel. Chansons de Saillé*, Librairie St-Aubin. Guérande, 1925.

INTRODUCTION

Les cristaux de sel sont anhydres mais retiennent d'ordinaire un peu d'eau-mère entre leurs lamelles. Exposé à l'air, le sel en absorbe l'humidité. Au contact des aliments qui renferment plus ou moins d'eau, le sel se dissout, formant ainsi de véritables solutions salées.

C'est pourquoi la bactériologie du sel comprendra *l'étude des Bactéries du sel cristallisé et l'étude des Bactéries des solutions salines*.

Qu'entend-on par sel ? Quelle est l'histoire des Bactéries du sel ? Nous allons d'abord définir ces deux termes, et ensuite nous étudierons les relations du sel avec les Bactéries.

On trouve dans la nature deux genres principaux de sel : le sel marin et le sel gemme, que le commerce et l'industrie utilisent indifféremment.

Le sel marin est retiré de l'eau de mer. Cette extraction se fait, dans les pays tempérés, par l'évaporation de l'eau saline jusqu'à une concentration suffisante, sous l'action combinée de la chaleur solaire et du vent, dans de vastes bassins, installés en bordure des côtes.

En France, ces exploitations existent sur le littoral de l'Océan Atlantique et sur celui de la Méditerranée : ce sont les marais salants de l'ouest et les salines du Midi.

Les marais salants de l'Ouest sont d'exploitation facile, favorisés qu'ils sont par les grandes marées, ce qui leur donne une supériorité sur les salines du Midi. Ces dernières nécessitent l'emploi de pompes élévatoires,

mais la température élevée et le souffle bienfaisant du mistral y activent l'évaporation de l'eau.

Le sel marin ainsi recueilli est livré tel quel au commerce, ou bien on le lave, ou bien on le raffine.

Ces dernières opérations s'appliquent aussi au *sel gemme*, extrait des mines. Celles-ci se trouvent surtout en Lorraine, dans la région de Nancy. C'est dans l'étage supérieur du Trias que se trouvent ces dépôts salins.

Telles sont les deux origines du sel livré à la consommation. On l'utilise soit en nature, soit en solutions concentrées.

HISTORIQUE

Qu'il soit à l'état de cristaux ou de solutions saturées, *le sel renferme-t-il des Bactéries ?*

En 1879, PAULSEN publia son premier mémoire sur ce sujet.

Pourquoi n'existe-t-il aucune publication antérieure ? Il est probable que le sel, considéré comme un condiment habituel, n'avait jamais attiré l'attention des Bactériologistes, qui l'employaient pour la constitution de leurs bouillons de culture, stérilisés ensuite, il est vrai.

Mais, en lui-même, le sel, revêtu d'un caractère presque sacré, ne pouvait inspirer de craintes aux hommes.

Ce fut un fait commercial qui amena les savants à s'occuper de ce condiment : on observa que de grandes quantités de Morues, conservées dans le sel, devenaient rouges. Le sel fut soupçonné de ce méfait. Un nouveau champ d'investigations s'ouvrait aux chercheurs : beaucoup tentèrent de trouver un germe unique, cause du « *du rouge de la Morue salée* ». FARLOW (1880), décrit le *Clathrocystis roseo persicina* ; LE DANTEC (1891), signale deux Bactéries chromogènes : un Bacille et un Microcoque ; RAPPIN, GROSSERON et SOUBRANE (1910-1914) étudient la question et accusent d'une manière formelle, le sel, d'être la cause de cette altération de la Morue con-

servée ; BECKWITH (1911), découvre le *Diplococcus gadidarum* ; BITTING (1911), ANDOUARD (1913), KELLERMANN (1914), discutent ces publications. En 1922, MARTEL et GERMAIN reprennent la recherche du germe pathogène et décrivent un *Micrococcus rubro viscosus*.

La diversité des opinions est extrême. Chaque expérimentateur découvre un nouveau Microbe, comme seule et vraie cause du rouge de la Morue.

Le rôle du sel comme vecteur de Microbes fut surtout étudié par RAPPIN, GROSSERON et SOUBRANE, qui jetèrent un véritable anathème contre le sel, « *auteur de nombreux risques pour le consommateur et l'industriel* ».

Les faits rapportés par ces auteurs sont-ils si redoutables ? A part ces savants, nous ne connaissons pas d'autres adversaires du sel pathogène.

Cependant les bactériologistes étudièrent l'action du sel sur la vitalité de certaines Bactéries. Citons les travaux de KOCH (1881), la thèse de MIQUEL (1883), les publications d'ARLOING, CORNEVIN et THOMAS (1887), WASSERZUG (1887), de FORSTER (1889), de FREYTAG, de GALTIER, et celles de PETRI (1890), STADLER (1899), GILBERT et CARNOT (1904), LAFFORGUE (1905), MULLER (1910), LOEB et WASTENEYS (1910-1911), KIESEL (1912), KARAFFA-KORBUTT (1912), SPERLICH (1912), COUPIN (1915), MAMELLE (1919), enfin les notes de DUTHOIT (1923). Les renseignements obtenus sont souvent contradictoires, les divers auteurs n'utilisant d'ailleurs pas les mêmes méthodes.

Ainsi fut effectuée, depuis 1879, l'étude des Bactéries. Mais quels en sont les résultats ?

RÉSUMÉ

Au point de vue de la bactériologie pure : les expérimentateurs ne s'entendent pas sur le degré de concentration nécessaire pour que la solution salée tue les microbes.

Dans le domaine pratique, ce n'est que depuis 1910, que le sel devint pour certains chercheurs un vrai foyer

de Microbes qui pourraient être dangereux. Quant au Microbe causant le rouge de la Morue salée, sa forme varie avec les observateurs.

Contradictions dans les expériences, incertitudes dans les faits d'observations, telles sont, à l'heure actuelle, les difficultés que nous rencontrons dans l'étude bactériologique du sel.

PLAN

Nous avons repris cette question, à l'aide des conceptions et des méthodes scientifiques modernes.

Tout d'abord, utilisant une méthode indirecte, nous avons recherché dans l'histoire ancienne qui précéda la découverte des Bactéries, si nous y trouvions des indices de leur existence. Le sel renfermait-il des Bactéries, surtout des germes pathogènes ? l'épidémiologie doit nous le dire.

Ensuite, attaquant directement le problème, nous rechercherons les Bactéries dans le sel et ses solutions. Puis nous examinerons l'action de différents Microbes vis-à-vis du sel.

Par le résumé de toutes nos conclusions, nous verrons de quelle manière on doit envisager la bactériologie du sel.

Voici donc le plan de cette étude :

I. — Faits d'observation :

- 1° Epidémiologie du sel.
- 2° Les Bactéries du sel.
- 3° Le sel et les aliments.

II. — Etude expérimentale de l'action du sel sur les aliments.

Résumé des faits et des expériences. Discussion.

Conclusions générales.

PREMIÈRE PARTIE

FAITS D'OBSERVATION

CHAPITRE I

Épidémiologie du sel

L'épidémiologie du sel, c'est l'étude des manifestations morbides chez l'Homme, dues à l'emploi de ce condiment.

Nous diviserons son histoire en deux périodes : 1^o une période ancienne antérieure à la découverte des Bactéries, et 2^o une période moderne qui date du début de la Bactériologie.

Aux faits de nosologie humaine, nous ajouterons toutes les observations qui pourraient nous fixer sur le rôle bactériologique du sel.

A. — Période ancienne

Jetons un coup d'œil rétrospectif, et cherchons dans l'histoire du sel, s'il est fait mention de quelque épidémie ou maléfice qui lui soit attribué.

Depuis le règne de l'empereur chinois NUËI-KING, qui, vers l'an 3215 avant J. C, aurait eu le premier l'idée de retirer le sel de la mer, il n'est fait mention d'aucune épidémie attribuable au sel.

1. — Bien au contraire, le sel est un *objet de vénération*. Le paganisme consacra le sel aux dieux. On le considéra comme aussi nécessaire que le pain, témoin cette façon, de donner l'hospitalité *en offrant le pain et le sel*.

Chez les peuplades sauvages, le sel est très recherché.

Au pays des Mandingues et des Bambaras, l'usage du sel est d'un luxe si grand que l'on dit d'un homme « *il assaisonne sa nourriture avec du sel* », pour faire entendre qu'il est très riche. Sur la Côte d'Or dans le district d'Acra, le sel est ce dont on fait le plus de cas, après l'or. Une poignée de cette précieuse substance suffisait naguère pour acheter un esclave.

Si le sel eut été entaché de quelques mauvaises propriétés, ces puissants empereurs, ces riches commerçants, trop soigneux de leur existence, ne se seraient jamais sali les mains en y touchant.

La Bible parle jusqu'à vingt-trois fois du sel, sans jamais en médire : elle raconte bien le châtimement de la curieuse femme de Loth changée en statue de sel, mais en quels termes ne fait-elle pas l'éloge de cet élément : « Ce qui est de première nécessité pour la vie des hommes,

c'est l'eau et le feu, le fer et le sel,
le pain de froment, le lait et le miel,
le sang de la grappe, l'huile et le vêtement ». (Ecclq. XXXIX, 31.)

2. — Peut-être, à cette époque, le sel, considéré comme un condiment rare, était-il déjà utilisé comme *un moyen de conservation* des matières putrescibles, car il est fait mention de ce procédé dans HOMÈRE et dans HÉSIODE. HÉRODOTE rapporte qu'il fut employé en Egypte de toute antiquité. Les momies égyptiennes doivent leur conservation à la dessication qu'elles ont subie et au sel dont elles furent imprégnées. D'ailleurs les Egyptiens employaient le même procédé, pour conserver les chairs qu'ils mangaient. Par extension, ils appliquèrent cette méthode aux autres aliments et objets fermentescibles.

Les Phéniciens, les Romains et les Gaulois mirent aussi en pratique ces merveilleuses propriétés du sel.

Cette substance représente, jusqu'à un certain point, le principe conservateur dans la nature. Selon le poète Anglais, il empêche l'eau de la mer de se corrompre et, après avoir servi à confire l'Océan (to pickle the Ocean),

il permet à l'homme de sillonner sa surface. En effet, sans l'usage des viandes salées, on n'aurait jamais pu entreprendre les voyages au long-cours et les expéditions lointaines, où les navires demeuraient plusieurs années sans pouvoir se ravitailler.

Eh ! bien, quelles maladies, quels dégâts, causa l'emploi du sel ? Il y eut bien des accidents dans la consommation des conserves salées. L'altération plus ou moins avancée de ces viandes n'expliquait-elle pas assez ces accidents ? Les morues rouges existaient à Terre-Neuve avant le rapport de FARLOW. Mais jamais il ne vint à l'esprit des observateurs d'attribuer au sel pareil méfait.

3. — Loin d'être reconnu comme une cause d'épidémies, le sel était considéré chez les Anciens, comme une substance de *grande valeur* au point de vue *nutritif et thérapeutique*.

L'homme civilisé a pris l'habitude d'assaisonner ses aliments avec le sel. Ce besoin devint nécessaire. Alors on regarda le sel comme une substance de première importance dans la nutrition.

Cette propriété se trouve renforcée par les nombreuses vertus thérapeutiques que les médecins et les apothicaires attribuèrent au sel.

Il était propre à résoudre les inflammations. Il purgeait et desséchait. On l'employait dans l'apoplexie et les convulsions. On s'en servait aussi dans les suppositoires et dans les lavements. Il dissipait et raréfiait les catarrhes si l'on en plaçait sur des compresses imbibées d'eau chaude.

« *Le sel restraint, réprime, absterge, mondifie, subtilie, résout et corrode, d'autant qu'il est de nature acre et brûlante, il contregarde de putréfaction la chair, le poisson et toutes les autres viandes, parce qu'il dessèche et consume leur humidité superflüe et reserve en soy leur substance molle et la rend solide par son astriction. Davantage il donne saveur à toutes viandes qui d'elles mesmes sont fades et n'ont point de goût, de sorte qu'il est très nécessaire à la vie humaine.* » (DE LA FRAMBOISIÈRE).

Telles étaient autrefois la renommée et les vertus du sel, dont le rôle pathogène n'existait pas.

B. — Période moderne

Après avoir exalté cette substance, nous voyons l'homme l'accuser d'être la cause de nombreux accidents.

A la suite des bons effets obtenus par le sel, il y eut en 1900, un véritable engouement en Angleterre. On a vu apparaître les mangeurs de sel ou *salistes*, qui ne tardèrent pas à être combattus par les *antisalistes*.

FARLOW, LE DANTEC, BECKWITH, MARTEL et GERMAIN, montrent que les microbes du rouge de la Morue salée vivent dans le sel.

Celui-ci, en cristaux ou en solutions concentrées, se présente pour RAPPIN, GROSSERON, SOUBRANE et ANDOUARD comme un vrai bouillon de culture. Aussi, selon ces auteurs, c'est le sel qui entraîne les intoxications et les affections scorbutiques chez les hommes qui ont absorbé des conserves salées.

Voici donc bien établie « *la contamination et la nocivité de tous les sels alimentaires* ».

Devant de telles affirmations, nous avons tenté la recherche de quelques épidémies ou autres maladies. Mais à part le rouge de la morue salée, dont on discute même le germe, nous n'avons relevé aucun fait capable d'appuyer les craintes de ces savants.

Mais reprenons ces observations. Et tout d'abord le sel renferme-t-il des Bactéries ? Quelles sont-elles ? Quel en est le rôle ?

CHAPITRE II

Bactéries du sel et de ses solutions

Au sein des éléments, comme la terre en sa profondeur et la mer en ses points très éloignés des côtes ou ses abîmes, toute vie semble anéantie. Un sel marin, provenant d'eau de mer puisée au large et traitée de façon aseptique, serait pratiquement stérile. Il en serait de même pour un échantillon de sel gemme, recueilli sans contaminations.

Entrons dans une épicerie en gros et pratiquons des prélèvements dans les sacs renfermant, les uns du sel marin, les autres du sel gemme. La mise en culture de ces sels, nous montre, après quelques jours, de nombreuses colonies de Microbes, les plus divers. Quelles sont ces Bactéries, et d'où viennent-elles ?

La présence de tous ces microbes paraît due à l'intervention de l'homme. En étudiant la fabrication de ces sels, nous verrons comment se fait cette contamination, et nous identifierons quelques unes des Bactéries trouvées.

I. — Sel marin

Si *l'eau de mer, puisée au large* peut être stérile, à mesure que l'on se rapproche de la côte, le nombre des Bactéries s'accroît. RUSSEL a noté cependant une très faible proportion de germes, en pleine mer, aussi bien à la surface, que dans les profondeurs. DE GIAXA a constaté une teneur très faible en Bactéries, à environ 3 kilomètres du rivage. Un centimètre cube d'eau de mer en renfermait 10, tandis que dans le golfe de Naples, le même expérimentateur en comptait 280.000. En un point

du littoral, voisin de nos marais salants de l'ouest, nous même avons observé 15.000 germes par centimètre cube.

Quelle différence vis-à-vis de l'eau prise au large des côtes ! Il ne faudrait pas penser que ces contaminations varient avec la salure de la mer. En effet, NIKITINE étudia la distribution du plankton de la mer Noire où la densité (1014), est un peu inférieure à celle de l'Océan Pacifique (1016), et il vit, en ce qui concerne le benthos, que la vie du fond disparaissait vers 220 à 225 mètres. Mais les couches inférieures, de 200 à 2.000 mètres, sont plus salées et plus denses. Dans celles-ci il trouva des Bactéries produisant de l'hydrogène sulfuré. Aussi l'eau de notre littoral, offrant un milieu moins spécifique par sa salure moindre, peut renfermer tout un monde de Microbes. Ce peuplement est facilité et accru par les apports quotidiens des fleuves et des égouts. Eh ! bien, c'est cette eau du rivage, ainsi polluée, qui alimente les marais salants.

1. — EAUX CAPTÉES

Les eaux-mères sont captées au moment des marées dans un grand bassin ou *vasière*, plus élevé que le niveau moyen de la mer et que celui des bassins d'évaporation. Il est relié à la mer par un canal, appelé *étier*. En cet endroit où l'eau séjourne toujours un peu, et où passera celle qui approvisionne les marais, nous avons fait porter notre examen sur un centimètre cube d'eau, diluée au centième. Nous avons pratiqué desensemencements sur gélatine. Après huit jours, nous avons numéré les colonies développées sur les cultures. Telle est la méthode générale que nous avons employée, pour toutes nos analyses de l'eau de mer, du sel et de ses solutions. Voici le résultat de nos recherches sur l'eau de différents *étiers* :

Echantillon N° 1...	30.000 Bactéries..	5.000 Moisissures	
—	N° 2... 32.000	— ... 8.000	—
—	N° 3... 33.000	— .. 8.000	—
—	N° 4... 35.000	— .. 12.000	—

De l'étier, l'eau de mer s'écoule dans la *vasière*.

Nous avons pratiqué plusieurs prélèvements dans *diverses vasières* et nous avons noté :

Echantillon N° 1..	10.000 Bactéries..	8.800 Moisissures
— N° 2..	14.000	— .. 0 —
— N° 3..	18.000	— .. 12.000 —
— N° 4..	35 000	— .. 100 —
— N° 5..	36.500	— .. 120 —
— N° 6 ..	40.000	— .. 10 000 —
— N° 7..	75.500	— .. 0 —
— N° 8.	125.000	— .. 1.800 —
— N° 9.	160.000	— .. 0 —
— N° 10.	180 000	— .. 8.000 —
— N° 11.	185.000	— .. 0 —
— N° 12.	210.000	— .. 0 —
— N° 13.	280.000	— .. 0 —

Ce tableau nous montre des quantités variables de germes suivant les échantillons. Ceci correspond sans doute à des contaminations différentes des eaux-mères.

Quant aux espèces microbiennes, nous avons pu en déterminer plusieurs : *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Sarcina rosea*, *Sarcina citrina*, *Cladothrix chromogenes*.

2. — BASSINS D'ÉVAPORATION

De la vasière on fait pénétrer l'eau dans les bassins d'évaporation. Parmi ceux-ci, nous distinguerons les bassins de purification et de saturation et les œillets.

A. — Les Bassins de purification et de saturation

L'eau pénètre d'abord dans un réservoir appelé *gobier* composé de petits compartiments, formant la première partie de la série des chauffeoirs, puis atteint la deuxième partie composée des *fares*, pièces d'eau à faible saturation, et enfin arrive dans les *adernes* où l'eau de mer est à la concentration de 20 à 22° B, tandis que dans son parcours elle a laissé déposer les sels de chaux, sulfates et carbonates en particulier.

Un échantillon de cette eau nous a montré 700.000 Bactéries et pas de Moisissures, dans un centimètre cube.

Parmi ces microbes, nous avons identifié :

Bacillus subtilis, *Bacillus mesentericus vulgaris*,
Cladothrix chromogenes, *Micrococcus roseus*.

B. — Les œillets ou tables salantes : sels bruts

1) C'est ici que s'effectue la cristallisation qui donnera le sel blanc ou fin, et le sel gris ou gros sel ; l'eau atteint à ce moment 33° B. Nous avons étudié au point de vue bactériologique les sels bruts et les eaux de l'œillet.

Les sels bruts comprennent le sel fin et le gros sel.

a. — Sel fin

Le sel fin se forme à la surface de l'œillet. On voit apparaître une légère écume qui cède bientôt la place à un mince voile de petits cristaux de sel marin. Dans la presque île guérandaise il possède une odeur spéciale de *violette*. Il passe pour être plus pur parce qu'il est plus blanc que les autres. En réalité, il n'est pas absolument irréprochable, puisqu'il cristallise dans une eau riche en microbes. A l'analyse bactériologique nous avons trouvé :

Echantillon N° 1...	1.500 Bactéries...	150 Moisissures
— N° 2...	120.000	— 85 —

b. — Gros sel

Quant au gros sel, c'est le sel qui est ramassé au fond de l'œillet. Pendant la campagne de Juin à Septembre, ces cristaux sont recueillis chaque jour par le *paludier* qui emploie, pour cet usage, une sorte de rateau, à long manche ou « *las* ».

Afin de faciliter leur besogne, les sauniers du Midi tapissent le fond de l'œillet avec un feutre végétal obtenu à l'aide d'Algues ou Conferves du genre *Microcoleus cervium* que l'on y développe par une véritable culture. Ce revêtement permet de retirer le sel à la pelle,

à l'époque du levage, sans le souiller de terre. Ainsi on ramasse plus facilement les amas de sel.

Un échantillon de ce sel, prélevé directement dans les marais, nous montra 900 Bactéries et aucune Moisissure. Les espèces microbiennes observées étaient : *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Sarcina citrina*, *Sarcina aurantiaca*, *Cladothrix chromogenes*.

Les divers amas de sel sont ensuite déposés sur une petite plate-forme circulaire appelée *ladure*, ménagée sur la chaussée. Puis le sel est transporté des *ladures* sur la digue. A cet endroit on réunit le produit de plusieurs œillets en gros tas tronconiques ou *mulons*. Le *mulon* est recouvert ordinairement d'argile pour éviter l'action dissolvante des eaux de pluie. C'est ce sel que l'on nomme sel gris ou gros sel, selon qu'il est plus ou moins mélangé d'argile.

Nous avons effectué de nombreux *prélèvements de sels* que nous avons soumis à l'analyse bactériologique. Voici quelques-uns des résultats obtenus :

Echantillons de gros sel				Région d'origine :
N° 1..	6.000	Bactéries	100 Moisissures	Guérande.
N° 2..	185.000	—	0	d°
N° 3..	154.000	—	200	d°
N° 4...	8.400	—	200	d°
N° 5...	76.000	—	700	d°
N° 6..	180.000	—	200	Salines du Midi.

Echantillons de sel gris				
N° 1..	168.000	—	100	Guérande.
N° 2..	300.000	—	800	} Salines de l'ouest.
N° 3...	31.600	—	700	
N° 4 ..	30.000	—	0	
N° 5...	15.000	—	0	

Parmi les Bactéries nous avons identifié les espèces suivantes : *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus vulgaris*, *Cladothrix chromogenes*, *Sarcinarosea*, *Sarcina citrina*.

2) Les eaux de l'œillet, restées après la récolte du sel, ont donné à l'examen bactériologique :

Echantillon N° 1.	900 Bactéries	100 Moisissures
N° 2.	1.800 —	4.000 —
N° 3.	20.000 —	800 —
N° 4.	35.000 —	1.800 —
N° 5.	45.000 —	12.000 —

Dans cette eau résiduaire nous avons isolé les espèces microbiennes suivantes : *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Bacillus megaterium*, *Sarcina rosea*, *Sarcina citrina*, *Micrococcus aurantiacus*.

Ainsi l'eau comme les sels renferment de nombreux microorganismes. En se cristallisant les sels semblent réunir un plus grand nombre de germes.

3. — SELS LAVÉS ET SELS RAFFINÉS

C'est pourquoi, avant d'être livrés au commerce, les sels bruts sont soumis à des opérations destinées à améliorer leur aspect et leur qualité. Ils subissent alors soit un simple lavage, soit une épuration complète ou raffinage.

a. — Lavage

L'eau de lavage sert, par mesure d'économie, à de nombreuses opérations du même genre. Aussi, cette eau fourmille t-elle de germes de toute nature. Nous en avons étudié deux échantillons qui ont donné :

Echantillon N° 1...	18.000 Bactéries...	200 Moisissures
N° 2...	14.000 —	... 200 —

Quant au sel, un prélèvement renfermait 15.000 Bactéries et 100 Moisissures par gramme.

Après ce lavage les sels sont broyés par des égrugeurs qui leur donnent un petit grain uniforme. Dans le commerce on appelle ce sel « le sel lavé ».

A ce moment, nous avons exécuté l'analyse bactériologique de trois prélèvements. En voici les résultats.

Echantillon N° 1...	12.000 Bactéries...	300 Moisissures
N° 2...	17.000 —	100 —
N° 3...	1.000 —	0 —

Ce lavage apparaît donc comme une purification illusoire au point de vue microbiologique.

b. — Raffinage

Cette opération est surtout appliquée au sel qui a séjourné 2 ans sur le marais sous une couche protectrice de terre argileuse, c'est-à-dire au sel en *mulons*.

Le raffinage commence par une *dissolution* du sel dans l'eau de mer prise au quai, le long de l'usine ; on laisse le liquide saturé, se clarifier par dépôt dans de grands réservoirs. L'analyse bactériologique de cette eau révéla :

Échantillon N° 1...	11.000 Bactéries..	100 Moisissures
N° 2...	1.000 —	100 —

Cette eau est ensuite *évaporée* à 108° C environ dans des poêles rectangulaires en tôle chauffées à la houille. Alors une seconde cristallisation du sel se produit. Cette méthode permet d'obtenir à volonté du sel « *fin-fin* » ou « *d'ébullition* », ou des sels *fin*, *moyen* et *gros*. Il suffit de faire varier la température et la durée des cuites. L'évaporation lente fournit du sel à gros grains, cristallisé en trémies ; l'évaporation par l'ébullition donne des sels *fins*, *fins-fins* ou sels *à la minute*, à la condition d'agiter la solution pendant qu'elle se refroidit. A la sortie des poêles, le sel raffiné est mis à égoutter et se dessèche lentement ; quelquefois on le sèche à l'étuve pour gagner du temps.

Voyons quel est le nombre des germes renfermés dans le sel, après ces diverses manipulations.

Un échantillon de sel ensemencé nous fournit des cultures stériles, après plusieurs essais.

Les autres prélèvements nous donnèrent des résultats suivants :

Echantillon	Région d'origine.			
N° 1.. 16.300 Bactéries.. 100 Moisissures.	Guérande			
N° 2... 1.400 — .. 120 — —	Salines de l'Ouest			
N° 3... 1.900 — .. 120 — —				
N° 4... 2.400 — .. 200 — —				
N° 5... 2.900 — .. 300 — —				
N° 6... 8.400 — .. 300 — —				
N° 7.. 11.500 — .. 500 — —				
N° 8.. 30.000 — 0 — —				
N° 9... 1.500 — .. 200 — —				
N° 10.. 1.900 — .. 100 — —				
N° 11.. 2.500 — 0 — —				
N° 12.. 1.300 — 0 — —	Bayonne	Salines du Midi		
N° 13.. 1.800 — 0 — —				
N° 14.. 2.300 — 0 — —				
N° 15.. 2.900 — 0 — —				
N° 16.. 3.800 — 0 — —				
N° 17. 51.100 — .. 200 — —				

La plupart des espèces microbiennes observées sont plutôt de nature saprophytique ; beaucoup sont des espèces chromogènes. Nous avons isolé : *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Sarcina aurantiaca*, *Sarcina citrina*, *Sarcina lutea*, *Sarcina rosea*.

En somme, tous les sels, obtenus en partant de l'eau de mer, renferment des Bactéries : *gros sel et sel fin sel lavé et sel raffiné*. De tous, ce dernier renferme la plus petite quantité de microbes.

Voyons s'il en est de même pour le sel gemme.

II. — Sel gemme

Résultat d'évaporation d'anciennes lagunes, le sel gemme existe dans presque toutes les formations géologiques. En Lorraine, est la plus importante exploitation française de sel. Situées dans l'étage keupérien du Trias, les couches de sel gemme se trouvent à 300 ou 400 mètres de profondeur. Et ici, comme là-bas, au large des côtes,

le grain de sel est stérile. Un prélèvement aseptique nous le prouverait facilement.

Mais dès l'arrivée de l'homme, l'air et les manipulations représentent les principaux facteurs de la contamination de ses cristaux. Et alors nous pourrions parler d'une Bactériologie du sel gemme. Pour se rendre compte de l'importance de l'apport microbien, il suffit de se rappeler comment se fait l'exploitation des gisements de sel gemme. Elle s'effectue selon deux procédés.

A. — Le premier procédé utilise des puits et des galeries qui traversent les grosses lentilles de sel, noyées dans les marnes irisées du Trias. L'exploitation s'y fait comme celle du minerai de fer, à la poudre noire et à l'aide de wagonnets. Ensuite les blocs sont égrugés c'est-à-dire concassés. Nous avons examiné ce sel égrugé au point de vue de *sa teneur en microbes* et nous avons trouvé pour l'échantillon :

N° 1....	1.100 Bactéries....	200 Moisissures
N° 2....	1.000 —	100 —

Ce sel peut être livré au commerce ou subir le raffinage comme le sel marin.

B. — Le second procédé employé est la *dissolution des nappes de sel gemme* par l'envoi d'un courant d'eau douce. L'opération se fait à l'aide de deux gros tubes concentriques par l'un desquels on verse l'eau douce, tandis que l'eau salée remonte par l'autre. Ensuite on traite cette eau saturée de sel de la même façon qu'on raffine le sel marin.

Ainsi l'on peut remarquer le grand nombre de manipulations auxquelles le sel gemme est soumis. L'eau de dissolution n'est pas stérile et les instruments non plus. Tout au long de sa fabrication le sel gemme ramasse en ses cristaux les germes qui peuvent lui être apportés par les eaux, les ustensiles et les hommes. C'est pourquoi, malgré son évaporation dans les poêles, le sel gemme livré au commerce est effectivement impur.

Deux prélèvements faits au hasard, dans une livraison de sel de l'Est, contenaient :

Echantillon N° 1...	8.300 Bactéries...	400 Moisissures
N° 2...	8.700 —	2.000 —

Parmi ces nombreuses Bactéries, nous avons identifié *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Micrococcus aurantiacus*, *Sarcina alba*, *Sarcina citrina*.

Ainsi l'extraction du sel gemme, comme celle du sel marin, nous fournit deux produits presque identiques au point de vue de leur constitution chimique et de leur contenu bactérien.

Celui-ci paraît à peu près semblable dans les deux sels, parce que les Bactéries possèdent des origines presque identiques. Au cours de la fabrication, les contaminations sont les mêmes. C'est tout d'abord l'eau plus ou moins polluée par le mélange avec les eaux résiduaires ou usées, qui sont déversées dans le fleuve ou la mer par l'égout voisin, ou ramenées à la côte par la marée. Puis ce sont les germes de l'air, ceux des ustensiles et de l'homme. Ne mentionne-t-on pas parfois la présence de déjections dans les salines ? Après tous ces multiples contacts, le sel a ramassé en ses cristaux tout un monde de Microbes saprophytes ou pathogènes, suivant les rencontres bonnes ou mauvaises.

III — Rôle pathogène des Bactéries

Au cours de nombreuses analyses, nous n'avons pas rencontré spécialement de Microbes pathogènes.

Et cependant RAPPIN, GROSSERON, SOUBRANE obtinrent des cultures en partant du sel marin et les injectèrent à des Cobayes. Ils leur injectèrent 1 centimètre cube de ces cultures dans le péritoine. Ceux-ci présentèrent des symptômes en 24 ou 48 heures. Dans une autre série d'expériences, ces savants injectèrent d'autres cultures génératrices à des Lapins, qui moururent avec des symptômes d'intoxication évidente.

Nous avons exécuté des expériences analogues. Dans chaque cas, l'innoculation intra-péritonéale de certaines

cultures à odeur putride, à la dose de 1 centimètre cube, amenait la mort des animaux, qui succombaient dans un délai très bref de deux à trois jours, en présentant des signes d'intoxication.

A part les Microbes signalés dans nos analyses de sel et de solutions salines, nous n'avons trouvé aucun Microbe pathogène.

Mais ces odeurs putrides et ces intoxications peuvent s'expliquer par la présence de certains Bacilles du groupe septique. Ces Microbes en se développant décomposent les substances du bouillon et produisent des composés à odeur putride.

Une action analogue peut se produire sur les albuminoïdes au sein des tissus où l'on inocule. Et nous connaissons l'action toxique rapide de Bacilles inoculés, qui, introduits par voie digestive, n'auraient amené aucun trouble : ces germes sont la plupart du temps saprophytes, et il faut des circonstances très spéciales, comme ces inoculations, pour exalter leur pouvoir nocif. Mais en pratique, on peut dire que le sel ne contient que des Microbes saprophytes. Tout se passe comme s'il possédait un pouvoir microbien vis-à-vis des microbes pathogènes qui se trouvent dans les eaux-mères.

Et c'est précisément cette croyance à un pouvoir bactéricide qui conduisit à employer le sel dans la conservation des produits alimentaires. Au contact de ceux-ci que deviendront les Bactéries du sel ?



CHAPITRE III

Le sel et les aliments

Nous ne nous étendrons pas à tous les cas où le sel peut être employé. A chaque plat, la cuisinière ne met-elle pas la dose voulue ? Le pain même est salé. Mais alors, si le sel contient quelques Bactéries, la chaleur les a vite détruites, ou, du moins, celles qui demeurent, ne présentent pas de virulence bien grande puisque jamais elles ne donnent lieu à des épidémies ou maladies notables.

Nous étudierons plus particulièrement la microbiologie du sel des conserves fabriquées par l'industrie. Ce sont les conserves de viande et de poisson, d'œufs, de beurre et de fromage.

Dans chaque catégorie, nous établirons d'abord la quantité de sel utilisé, puis nous rechercherons ses Bactéries et nous en dégagerons le rôle.

I. — CONSERVES DE VIANDES ET DE POISSONS

Les viandes que l'on sale sont celles de Bœuf et de Porc. Parmi les poissons, on sale surtout la Morue dont la pêche se fait à Terre-Neuve et en Islande, mais aussi les Maquereaux, les Harengs, les Anchois, les Sardines, les Saumons, la Tanche, l'Esturgeon... Les œufs de ce dernier poisson sont nettoyés et salés et ils constituent en Russie une conserve renommée : le caviar.

Toutes ces matières alimentaires sont *salées ou saumurées*. Le salage s'exécute très simplement : on saupoudre la substance à conserver et on l'entasse dans un récipient. On emploie en général 25 à 30 grammes de sel pour 100 grammes de substance alimentaire à conserver. Pour obtenir une bonne saumure il faut utiliser une solution salée concentrée. VILLIERS et COLLIN

donnent la formule suivante comme étant celle d'une bonne saumure :

eau	100 litres.
sel marin	12 kilogrammes.
salpêtre	400 grammes.
sucré	500 grammes.

Telles sont les quantités de sel contenues dans les solutions que nous analyserons après les avoir mises au contact des viandes et des poissons.

Pour procéder à une *analyse bactériologique*, nous diviserons l'étude de ces salaisons en trois périodes :

1^o Période de bonne saumure

La saumure fraîche, sans altération, montre une réaction acide. L'action microbienne semble anéantie ou tout au moins suspendue.

Nous avons recherché les Microbes de la putréfaction et nous n'en avons point trouvé. Alors qu'une viande ou un poisson, conservé dans l'eau, se putréfie rapidement, nous voyons ici le sel détruire ces germes et assurer la conservation. Donc, l'action microbicide du sel, aussi faible soit-elle, n'en existe pas moins.

Mais tous les Microbes ne sont pas tués pour autant. La *présence de germes microbiens* au sein de la saumure ou des substances qui y sont immergées est attestée par diverses constatations.

C'est d'abord la fameuse relation de VAN ERMINGEN sur le cas d'*empoisonnement alimentaire* à Ellezelles en 1895. Ce savant put établir que ces empoisonnements avaient une origine microbienne et que l'altération du jambon incriminé était due à une fermentation anaérobie spéciale, déterminée par un Microbe qu'il désigna sous le nom de *Bacillus botulinus*. L'enquête démontra que le jambon provenait d'un animal sain. En effet, l'autre jambon ainsi que du lard provenant du même animal et conservés dans le même tonneau de saumure où se trouvait le jambon suspect, avaient été consommés sans inconvénients. Mais il fut établi aussi que la viande, qui

avait déterminé les accidents, avait seule été déposée au fond du tonneau et avait été complètement immergée dans la saumure. Là, elle avait rencontré les conditions les plus favorables pour le développement de Bacille anaérobie spécifique que l'on put en isoler.

Dans ce cas, il ne faut pas accuser les altérations de la saumure, car l'examen bactériologique y démontre l'absence de Microbes de la putréfaction.

Nous avons eu l'occasion de faire des observations analogues. Nous avons mis en saumure de la *viande de porc atteint de rouget*. Après plus d'un mois d'immersion dans la saumure, nous avons encore trouvé des Bacilles du rouget qui nous donnèrent des cultures et des inoculations positives.

Microbes contenus dans la chair de la morue salée. — Nous avons examiné 3 morues d'origines différentes.

Nous avons utilisé les milieux de culture (liquides et solides) ordinaires, ainsi que de la gélose au bouillon de morue. Différents échantillons prélevés à divers endroits des poissons, furent introduits dans ces milieux. Les milieux ainsiensemencés furent placés à l'étuve à 37° C. Après 48 heures, de nombreuses colonies couvraient les milieux de culture solides. La flore était constituée par des Cocci et des Bacilles (grands et petits), des Sarcines, des Moisissures : *Penicillium glaucum*.

Microbes contenus dans la saumure. — Dans cette expérience, comme dans les précédentes, l'examen de la saumure ne nous a révélé aucun Microbe de la putréfaction. Et cependant cette saumure reconnue bonne et ne présentant aucun signe d'altération, renfermait des Microbes. Nous en tenons pour témoins les expériences suivantes :

Dans une charcuterie de Nantes, nous avons prélevé un échantillon de saumure de lard, vieux de 2 mois. Au 8^e jour de la culture, nous avons compté 960.813 Bactéries par centimètre cube et aucune Moisissure.

Un prélèvement de saumure effectué dans une importante maison de salaison de la région, a donné 705.600 Bac-

téries par centimètre cube et pas de moisissure. Un autre, à bord d'un navire ancré dans le port de Nantes, nous montre 173.455 Bactéries et 614 Moisissures.

Nous avons analysé des échantillons provenant de saumures, les unes préparées depuis peu de temps, et les autres depuis 8 mois. Les colonies sur plaque de gélatine furent très nombreuses. Même en employant une dilution à 1 ‰, tout le milieu de culture était envahi au 3^e jour et ceci empêchait la numération des colonies au 8^e jour. Cependant si nous nous reportons aux tables de MIQUEL, nous voyons que dans ces cas, les diverses saumures auraient donné au 8^e jour les chiffres suivants :

Saumures préparées depuis 8 jours environ	{	N° 1	34.025.000 Bactéries	
		N° 2	705.000	—
Saumures de 8 mois environ	{	N° 1	6.035.250	—
		N° 2	96.000	—.

Trois autres échantillons de saumures nous donnèrent les quantités suivantes :

Saumure de 6 mois :	185.000 Bactéries	800 Moisissures.
9. — :	170.000 —	900 —
12 — :	138.000 —	600 —

Tous ces faits démontrent que les saumures renferment des Microbes ; mais que l'activité vitale de ceux-ci se trouve ralentie.

Outre ce rôle d'arrêt, nous avons vu que la saumure peut détruire certains Microbes, sans toutefois désinfecter les viandes et les poissons contaminés avant leur salaison.

Rôle pathogène des microbes des aliments salés

Dans les substances alimentaires salées, peuvent exister des germes pathogènes qui deviendront la cause d'empoisonnements ou de maladies. Témoin l'empoisonnement alimentaire d'Ellezelles.

Quant aux Bactéries de la saumure, ce sont surtout des agents saprophytiques. La saumure n'offre pas de bonnes conditions à leur développement et n'exalte pas leur virulence, car leurs cultures injectées à des Cobayes, n'occasionnent chez ces animaux que des troubles légers.

Modifications de la saumure. — Le sel ou la saumure pénètre peu à peu dans la viande ou la chair du poisson. Le sel absorbe le suc musculaire et se substitue presque entièrement à lui. Il pénètre dans les interstices musculaires et dans les gros vaisseaux qui renferment encore des caillots.

La concentration en sel à l'intérieur des viandes et des poissons augmente progressivement : ainsi, dans la chair du poisson immergé dans la saumure, FILLON trouva après 24 heures 4 gr. 2 de sel pour 100 grammes de substances, après 48 heures 18 gr. 1, au 7^e jour 26 gr. 4 et au 10^e jour 31 gr.

On comprend dès lors que les Microbes en un pareil contact puissent être détruits, ou tout au moins arrêtés dans leur développement.

A mesure que le sel pénètre dans les chairs, la plus grande partie des substances albuminoïdes et les sels contenus dans le suc musculaire passent dans la saumure. Nous connaissons la toxicité de ces albumines souvent modifiées avant la salaison du poisson. Ces altérations et leur concentration dans la saumure peuvent facilement expliquer la mort de Porcs que nous avons nourris avec des saumures non altérées de Morues.

Du reste l'autopsie de ces animaux n'a rien révélé.

Tels sont les échanges qui se produisent entre les viandes de poissons et la saumure fraîche.

2^e Période de la saumure altérée

A mesure que le contact se prolonge, la concentration de la saumure diminue à la fois par apport d'eau et *perte de sel*, tandis que la proportion des principes albuminoïdes s'accroît sensiblement.

Les chances d'altération augmentent avec la proportion de *ces principes très fermentescibles* ; ainsi une saumure devient rapidement un bouillon de culture riche dans lequel les Bactéries de la putréfaction surtout peuvent se multiplier avec facilité. On est exposé à voir la saumure « tourner », pour employer un terme de métier. C'est une véritable décomposition. A ce moment la saumure est devenue inutilisable. Saumure, viandes et poissons participent aux mêmes processus de putréfaction et de pullulation microbienne.

Alors la saumure présente une réaction alcaline. Elle est trouble, recouverte d'une écume blanche. Son goût est modifié, son odeur est ammoniacale.

Bactéries. — Si nous prélevons une goutte de cette solution salée et si nous l'examinons au microscope, entre lame et lamelle, nous y voyons une très grande quantité de Bactéries.

Quelles sont les Bactéries des saumures altérées ? Ce sont celles de la putréfaction des viandes et des poissons.

Au début se dégage une odeur fade, due à l'attaque des matériaux hydrocarbonés par des Microbes aérobies et anaérobies. Nous avons trouvé à ce moment *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, et *Bacterium termo*. Puis apparaissent, *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Bacillus violaceus*. Enfin quand l'odeur devient putride, nous trouvons, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*.

Comme espèces anaérobies, nous avons rencontré *Bacillus putrificus*, *Bacillus putridus gracilis*, *Bacillus liquefaciens parvus*, *Bacillus perfringens*, *Bacillus botulinus* et *Clostridium fœtidum*, *Bacillus bifermentans sporogenes*, *Diplococcus magnus anaërobius*.

Ces germes proviennent de l'air, du sol et des diverses contaminations qui résultent des nombreuses manipulations de ces produits. Le sel n'apporte que des Microbes saprophytes.

Parmi ces Bactéries beaucoup peuvent donner des spores et demeurer ainsi sous cette forme de résistance dans les saumures, en attendant le moment favorable à

leur développement, quand la concentration en sel diminue.

Rôles des Bactéries des saumures tournées. — La saumure est devenue un bouillon putride. Cette altération est attestée par diverses intoxications.

SACQUÉPÉE a étudié l'empoisonnement alimentaire. Il y trouve presque toujours une origine microbienne. Dans 8 cas sur 10, ces accidents se traduisent par des symptômes d'intoxication gastro-intestinaux. Cet auteur reconnaît comme causes trois principaux Microbes :

1° Les salmonella, et en particulier le *Bacillus enteritidis* de GAERTNER :

2° Le *Bacillus proteus*.

3° Le *Bacillus botulinus*.'

Ce sont précisément ces Bactéries ou des espèces voisines, que nous avons rencontrées dans l'étude des saumures tournées.

Celles-ci produisent des troubles chez les animaux comme chez l'homme. *Le Journal des connaissances médicales* a signalé, en 1900, le fait d'empoisonnement de 28 Porcs par l'absorption d'une saumure datant de plus de 4 ans.

Certains auteurs attribuèrent le scorbut à l'usage de conserves salées, accusant d'une façon indirecte le sel comme auteur pathogène. En réalité, le sel n'y est pour rien. Les recherches modernes ont montré que le scorbut provenait d'une Avitaminose, attribuée à l'absence de la Vitamine C, dans les aliments.

Mais entre la saumure fraîche et la saumure tournée, il existe toute une série de types intermédiaires. En pratique, ceux-ci n'attirent pas l'attention. Quelquefois cependant, ils se révèlent par la production de teintes de colorations variées, dues à des *Microbes chromogènes*.

3° Période des Microbes Chromogènes.

Ces microbes poussent sur les viandes et les poissons conservés dans le sel. Nous étudierons successivement

les Microbes chromogènes des poissons et ceux des viandes.

A. — **Microbes chromogènes des Poissons altérés**

Ces Microbes furent étudiés d'une façon particulière sur les Morues et les Sardines.

a. — **Microbes chromogènes de la Morue**

Les Morues conservées présentaient souvent des taches de diverses couleurs.

Mais une couleur dominait dans les ports de pêche, c'était le rouge. Des cargaisons entières présentaient une teinte rougeâtre. C'est ce phénomène que les pêcheurs désignaient sous le nom de « *maladie du rouge de la Morue salée*. »

z. - **Rouge de la Morue salée**

La Morue, blanche au moment où on la prépare, doit rester blanche, si elle est bien conservée. Mais il arrive souvent qu'elle prend une teinte rose ou orangée, qui peut se généraliser sur tout le poisson et rappelle alors la chair du Saumon : c'est la *Morue rouge*. Ce fait a été observé depuis longtemps chez les pêcheurs de Terre-Neuve. Mais il n'attira l'attention qu'à partir du moment où il commença à prendre une extension telle qu'il occasionna des dommages à l'industrie.

A quoi est due cette coloration ? Les chercheurs apportèrent chacun leur contribution, décrivant un ou plusieurs organismes nouveaux comme agents pathogènes exclusifs : Cocci, Bacilles, Algues et Champignons.

Examinons ces divers germes au point de vue de leurs caractères morphologiques et biologiques.

1. — **COCCHI.** — **Micrococcus littoralis** de PAULSEN. — La plus ancienne étude bactériologique, sur ce microbe, date des travaux du savant danois PAULSEN. A Copenhague en 1879, cet auteur publia un mémoire où il décrivait un microcoque comme agent du rouge de la Morue salée. Et il nomma ce Microbe : *Micrococcus littoralis*.

LE DANTEC, en 1891, trouva des Cocci, le plus souvent associés par groupe de 4. Ce savant découvrit ces Microbes en examinant au microscope un échantillon de morue rouge altérée. Celle-ci est caractérisée par une matière rouge, visqueuse bien que friable, à réaction fortement alcaline et odeur nauséabonde.

Coccus du rouge de la Morue. — La cause de cette substance rouge est, pour LE DANTEC, un Coccus qu'il dénomma Coccus du rouge de la Morue.

Isolement. — Pour obtenir une culture pure de ce germe, il suffit de prendre un échantillon de morue altérée et de l'ensemencer sur de nombreuses plaques de gélatine.

LE DANTEC pense que seul le hasard fait rencontrer ce Coccus dans les ensemencements. C'est après 3 et 4 mois que l'on trouvera peut-être une colonie de ce Microbe mélangé à d'autres. Mais par des cultures successives on pourra finir par l'obtenir à l'état pur.

Morphologie. — Alors l'examen microscopique nous montre un Coccus dont les plastides mesurent 3 à 5 μ de diamètre. Quelquefois, on voit à l'équateur un petit trait, début de la formation d'une membrane. C'est la division qui s'amorce.

Cultures. — Ensemencé sur les milieux usuels, ce Micrococcus pousse avec peine. Cependant sur gélatine en plaque, il constitue des colonies en forme de disques, plus rouges au centre qu'à la périphérie, pas très grandes, atteignant au plus 1 mm. de diamètre, quand elles se trouvent à leur maximum d'extension, c'est-à-dire vers le 15^e jour de culture.

L'ensemencement en piqûre dans un tube de gélatine donne une culture en clou après un temps très long. La pointe du clou de la culture est plutôt jaunâtre que rouge. Quant à la tête, elle se dresse d'abord en monticule, puis s'étale sur la gélatine. D'un rouge pâle au début, elle prend ensuite une coloration d'autant plus foncée que la culture est plus vieille. Mais jamais la gélatine ne présente de liquéfaction.

Chromogénèse. — Le micro-organisme possède la particularité de fabriquer beaucoup plus de pigments lorsqu'il est associé à un autre Microbe que lorsqu'il est seul.

La reproduction expérimentale du rouge de la Morue, fut tentée par LE DANTEC avec ce Coccus. Celui-ci, ensemencé sur un fragment de morue saine, est incapable de provoquer la coloration, s'il est seul. Mais associé avec un petit Coccus liquéfiant la gélatine (et que l'on rencontre souvent avec le Coccus de la Morue rouge) il peut se développer activement sur la Morue et produire une coloration manifestement rouge.

Rôle pathogène. — Des cultures du Coccus de LE DANTEC furent inoculées à diverses espèces animales (Chien, Lapin, Cobaye) par des voies différentes, ingestion, injection hypodermique, injection intrapéritonéale : jamais aucun accident ne se produisit.

A côté de cette description nous devons en placer une autre, celle du *Micrococcus rubro-viscosus* de MARTEL et GERMAIN.

Micrococcus rubro-viscosus. — *Isolement.* — Ces auteurs isolèrent ce nouveau microbe en utilisant des milieux de culture solides, gélose à la morue saturée de sel, par exemple : le résultat ne fut obtenu qu'après de multiples insuccès.

Morphologie. — Prélevons une colonie et mélangeons-la avec de l'eau. Nous obtiendrons, d'après ces auteurs, une émulsion ayant l'apparence mucilagineuse ; le phénomène serait caractéristique du rouge. Étale en frottis, ce prélèvement n'adhère bien à la lame qu'après fixation par la chaleur. Alors l'aspect de la préparation ressemble à celle d'un échantillon de mucus. L'examen microscopique ne donne pas plus de renseignements, tout est flou. Les divers colorants donnent une coloration diffuse (1).

Cependant l'examen sur fond noir permet de définir le microbe ; c'est un Coccobacille.

(1) Ce fait ne peut s'expliquer que par une technique défectueuse. Il fallait au préalable laver les corps microbiens en utilisant des solutions salées de moins en moins riches en sel jusqu'à l'eau distillée.

Caractères généraux de culture. — Le Microbe est aérobie.

Tout milieu organique, saturé de sel, semble propre à sa multiplication. Il rentre donc dans le groupe des Bactéries chlorurophiles.

Sa multiplication commence à 10° C. La rapidité de son développement croît aux environs de 35° C., température qui paraît être celle de l'optimum de division.

Sur les milieux usuels, ce Coccus se développe lentement à 35° C. Ses colonies n'apparaissent alors qu'après un mois.

Dans une culture sur gélose, les auteurs virent se produire après un mois de petites colonies rouges. Celles-ci finirent par envahir toute la surface du milieu qui rougit, reproduisant un aspect analogue à celui du rouge de la Morue.

Milieux de culture spéciaux. — Sur milieux solides, gélose-morue saturée de sel, pomme de terre saturée de sel, la culture se manifeste après un délai d'un mois, parfois sous forme de petites colonies punctiformes, transparentes, d'abord roses, puis d'un rouge rubis brillant.

Lorsque ces colonies ont atteint certaines dimensions, elles ont une tendance à couler comme de la gelée molle.

En milieu liquide, comme le bouillon de morue saturé de sel, la culture se traduit par la formation d'un voile rose, puis rouge. Le voile est très fragile. Les fragments qui s'en détachent donnent un dépôt rouge. Celui-ci s'accumule progressivement au fond du tube en même temps que le voile se reconstitue.

Pigments. — La couleur rouge des cultures est due à un pigment formé par le Microbe. Après quelques mois, la teinte rouge des cultures s'atténue et jaunit comme si le Coccus cédait le pas à d'autres formes microbiennes plus résistantes.

Les auteurs ne procédèrent pas à la reproduction expérimentale du Rouge de la Morue à l'aide de ce germe.

Résumé. — Le microbe décrit par MARTEL et GERMAIN

s'ajoute donc aux autres Cocci décrits comme agents du rouge. Nous connaissons donc :

1. — *Micrococcus littoralis* de PAULSEN.
2. — *Coccus du rouge de la morue* de LE DANTEC.
3. — *Micrococcus rubro-viscosus* de MARTEL et GERMAIN.

Discussion. — Avons-nous bien affaire à 3 Microbes différents ?

Les caractères flous et diffus de cette masse muqueuse qui représente le *Micrococcus rubro-viscosus* nous laisse très perplexe. Pour préciser cette étude nous avons demandé quelques échantillons à MM. MARTEL et GERMAIN. Mais par malheur il nous fut répondu que, depuis plusieurs années, ces savants avaient cessé de s'intéresser à la culture de ce Microbe, et que le Laboratoire n'avait plus de culture du *Micrococcus rubro-viscosus*. Dans ce cas, nous ne pouvons discuter l'opinion de ces auteurs.

Reste l'étude détaillée faite par LE DANTEC. Il semble bien que la description précise donnée par cet auteur permette d'identifier le Coccus rouge de la morue avec le *Micrococcus littoralis* de PAULSEN.

Conclusion. — PAULSEN, ayant le premier décrit et nommé ce microbe, nous conserverons l'appellation de *Micrococcus littoralis* PAULSEN, avec le synonyme *Coccus rouge de la morue* de LE DANTEC.

Diplococcus gadidarum. — À côté de ce Microbe, on a décrit un diplocoque, *Diplococcus gadidarum* BECKWITH.

En 1911, BECKWITH publia les résultats de ses recherches sur le rouge de la morue qui se manifestait alors d'une façon intense sur les poissons de Gloucester. Des examens microscopiques nombreux montrèrent à ce savant au milieu de Bactéries et d'Algues chromogènes un germe prédominant qu'il nomma *Diplococcus gadidarum* (1).

Isolement. — Quand cet auteur essaya de cultiver ce Microbe sur les milieux naturels d'usage courant, il n'y

(1) En général on n'admet pas la validité du genre *Diplococcus*.

parvint pas. Les colonies colorées dues à d'autres Bactéries envahissaient avec rapidité les milieux de culture.

Après plusieurs tentatives, il eut recours aux 2 méthodes suivantes :

1. — Il faisait tremper durant une nuit 100 grammes de morue préparée pour le marché dans un litre d'eau de pluie ou d'eau distillée. Puis il filtrait et ajoutait 2 % de gélose. Après chauffages et filtrations répétées, pour supprimer les albumines précipitées, le milieu était mis en tube et stérilisé.

2. — Pour faire un autre milieu, l'auteur utilisait la saumure qui se trouve dans les tonneaux de morues salées. Il étendait cette saumure d'eau distillée, puis il ajoutait 2 % de gélose.

Sur ces milieux les colonies rouges se développent en 4 jours à une température de 20° à 30° C.

Morphologie. — Le *Diplocoque* mesure de 4 à 5 μ . Mais après 2 ans de culture il mesure 1 μ (1). Les deux plastides d'un couple montrent sur leur face interne une encoche analogue à celle des plastides du *Gonocoque*.

Le *Diplocoque* se colore facilement par les colorants usuels et notamment par la fuchsine et le bleu de méthylène.

Caractères généraux des cultures. — Le *Diplocoque* est strictement aérobie : il ne peut se développer en l'absence d'oxygène. Il peut cultiver sur les milieux ordinaires. Mais la gélose au bouillon de bœuf fournit peu de colonies.

Milieux spéciaux. — Sur les milieux à base de morue salée, la culture est plus abondante, mais elle ne se produit qu'à 25° C, et seulement après 20 ou 30 jours d'étuve. Les colonies mesurent de 1 à 2 mm. de diamètre, et présentent un centre légèrement relevé. Elles sont de couleur rouge saumon, mais la périphérie est blanche.

Pouvoir chromogène. — Le germe sécrète un pigment

(1) Une variation aussi grande du diamètre nous laisse très perplexe sur la pureté de la culture initiale.

rouge, mais, ainsi que cela s'observe chez de nombreuses Bactéries, son pouvoir chromogène s'atténue avec le temps. Après 20 à 25 repiquages, les colonies perdent leur coloration rouge et deviennent rouge saumon, et puis rose-blanc.

La reproduction expérimentale du rouge de la morue fut faite par LE DANTEC. Il utilisa comme milieu de culture la chair du poisson stérilisée. L'ensemencement du *Diplocoque* y produisit les colonies colorées en rouge caractéristique.

Caractères halophytiques. — Cette faculté de cultiver sur des milieux riches en sel amena BECKWITH à rechercher les caractères halophytiques de ce Microbe. Il éleva d'une façon progressive le pourcentage en chlorure de sodium dans les milieux de culture à base de Morue, si bien qu'il arriva à cultiver ce *Diplocoque* dans les milieux contenant jusqu'à 15 % de chlorure de sodium. Avec une teneur de 20 % ce Microbe ne poussait plus.

Cette tendance halophytique est un caractère biologique spécial : jointe aux autres propriétés, elle forme un ensemble de témoignages qui permettent de considérer le *Diplococcus gadidarum* comme une espèce distincte du *Micrococcus littoralis*, mais étant donnée la caducité du genre *Diplococcus*, on devrait l'appeler *M. gadidarum*.

2. — **SARCINES.** — A côté des formes précédentes, les expérimentateurs rencontrèrent souvent des Sarcines. Parmi celles-ci HÆKEL en 1887, décrivit une Sarcine qui serait capable de produire le rouge de la Morue salée. Il la nomma : *Sarcina morrhuae*.

Les caractères morphologiques cultureux et biologiques, données par HÆKEL au sujet de ce Microbe nouveau, nous permettent de l'identifier avec *Sarcina morrhuae* de FARLOW et *Sarcina littoralis* de PAULSEN (1). C'est celui-ci qui le premier a donné une description suffisamment précise de cette Sarcine : aussi devons-

(1) Cette forme bactérienne est distincte de *Micrococcus littoralis* PAULSEN.

nous lui conserver le nom de *Sarcina littoralis* PAULSEN pour la distinguer de la Sarcine erythrogène D'HÖEKELE.

3. — **BACILLES.** — BECKWITH avait retrouvé le *Micrococcus* de PAULSEN, mais il avait constaté en outre la présence de Bacilles, qui n'attirèrent pas son attention, bien qu'avant lui plusieurs savants aient décrit des Bacilles comme agents du rouge de la Morue.

Bactérie chromogène de GAYON et CARLES. — GAYON et CARLES, en 1885, publièrent une note très courte à la société d'*Hygiène publique de Bordeaux*. Ils annonçaient avoir cultivé une *Bactérie chromogène* en partant de morues rouges. Ce Microbe, d'après eux, poussait bien dans les milieux riches en sel marin.

Bacillus rubescens. — Comme autre description de Bacilles, nous devons mentionner celle d'EDINGTON. En 1887, sur l'initiative de la Commission écossaise du poisson, ce savant étudia le rouge de la morue salée. Il y trouva plusieurs organismes associés, parmi lesquels il distingua un Bacille qu'il nomma *Bacillus rubescens*. C'était la seule forme qu'il ait pu isoler, capable de produire une coloration rouge sur les milieux usuels.

Bacilles découverts par LE DANTEC. — En 1881, LE DANTEC reprit l'étude du rouge de la morue et publia dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, le résultat de cinq années de recherches.

LE DANTEC découvrit 2 Bacilles capables de produire le rouge de la morue salée : un Bacille sporogène qu'il appela Bacille rouge de Terre-Neuve, et un Bacille non sporogène. C'est en étudiant une morue rouge saine qu'il trouva ces Microbes. Pour lui, il existe deux périodes d'altération de la morue : une première qu'il appelle période de la Morue rouge saine, caractérisée par la présence sur la Morue d'un vernis non visqueux, s'enlevant facilement, et laissant voir au-dessous une chair musculaire saine et forte ; et une deuxième période, celle de la Morue rouge altérée causée par un Coccus.

C'est en dissociant une parcelle du vernis qui recouvre

la Morue rouge saine de la première période que LE DANTEC trouva ses 2 Bacilles.

BACILLE SPOROGENE OU BACILLE ROUGE DE TERRE-NEUVE. — Isolement. — Le Bacille rouge de Terre-Neuve ne peut pas être isolé par les moyens de culture ordinaire. Voici les 2 procédés que donne LE DANTEC pour obtenir d'emblée une culture pure.

On dilue avec soin un fragment de rouge de Morue du 1^{er} degré, dans une goutte de bouillon stérilisé. Cette opération est indispensable à cause de la gangue visqueuse qui réunit les organismes. On transporte cette goutte de bouillon dans un tube de gélatine fondue, que l'on verse ensuite dans une boîte de Pétri ; en enlevant des tranches de gélatine que l'on sème dans un nouveau tube, on obtient une deuxième plaque. Après 8 jours, on obtient de belles colonies rouges, contenant le Bacille à l'état de pureté.

Le deuxième procédé est moins long. On utilise la résistance particulière des spores vis-à-vis de la chaleur pour le séparer des autres Microbes qui pullulent sur la Morue. Pour cela, on renferme dans un tube de verre effilé capillaire une petite parcelle de morue rouge dissociée dans l'eau stérilisée. Puis on ferme les 2 bouts du tube à la flamme et l'on plonge le tout pendant une minute dans de l'eau à 95° C. Ensuite onensemence sur une plaque pour obtenir des cultures pures, car il peut exister sur la Morue des espèces sporulées autres que le Bacille érythrogène.

Morphologie. — Le Bacille montre des dimensions variables suivant les milieux de culture utilisés. Sur la Morue certains échantillons possèdent 4 μ , d'autres 10 μ , ou plus encore. Examiné en goutte pendante, le Bacille apparaît mobile. Ce germe présente toujours une spore brillante à une extrémité. LE DANTEC le compare au Bacille tétanique, en faisant abstraction de l'épaisseur qui est plus grande.

Culture. — Ensemencé sur plaque de gélatine, ce Bacille forme des colonies qui apparaissent comme des

disques d'un rouge pâle au centre d'un rouge plus foncé à la périphérie. Quelquefois la couleur rouge est uniforme.

Vers le 12^e jour de culture la colonie a atteint son complet développement. Elle mesure alors un diamètre maximum de 2^m ^m.

En piqûre dans un tube de gélatine, les colonies liquéfient lentement ce milieu, en formant un entonnoir.

Si l'on pratique l'ensemencement en stries sur gélatine, les colonies se développent de la façon la plus abondante. Elles apparaissent sous forme d'une trainée rouge intense liquéfiant très lentement la gélatine.

A ce propos, LE DANTEC fait remarquer que la gélatine, préparée depuis un certain temps, ne peut plus être liquéfiée par ce Bacille (1).

Sur gélose : la coloration rouge de la strie, se détache moins bien à cause de l'opacité du substratum.

Le Bacille ensemencé en bouillon ordinaire, produit rapidement un trouble, et dans la suite un dépôt grisâtre.

Sur pomme de terre : Le germe pousse difficilement.

Pigment. — LE DANTEC signale que ce microorganisme, fournit plus de matière colorante à la température de 10° à 15° C. qu'à la température de 37° C.

La reproduction expérimentale du rouge de la Morue fut exécutée par LE DANTEC. Cet auteur fit les deux expériences suivantes.

D'une part il prit un fragment de morue stérilisée à l'autoclave, et l'ensemença avec le Bacille erythrogène isolé. Le morceau de poisson présenta peu à peu une coloration rouge.

D'autre part, il préleva un fragment de morue dans le filet du poisson, là où la chair musculaire est blanche, épaisse et presque indemne de microbe. Il le maintint dans une atmosphère humide. Pour cette culture il

(1) Ces variations apparentes du pouvoir liquéfiant sont fréquentes en Bactériologie, cela tient aux modifications de la gélatine dues à la synérèse (LASSEUR).

utilisa les tubes de Roux. Dans la cuvette inférieure de ceux-ci il plaça un peu d'eau ou de bouillon stérilisés. Puis la morue maintenue humide y fut introduite. Il pratiqua l'ensemencement du Bacille et laissa le tube à une température de 13° à 20° C. C'est la température la plus favorable au développement de ce Bacille.

Après quelque temps de culture, il nota deux faits.

1° Une coloration rouge plus intense sur le côté du fragment de Morue, qui avait été exposé au sel.

2° Une production de spores beaucoup moindre sur ce terrain naturel que sur les milieux usuels ordinaires.

Rôle pathogène. — LE DANTEC rechercha quelle influence ce Bacille pouvait avoir sur l'organisme de divers animaux, il n'en trouve aucune. Il fit ingérer à des Chiens, des Lapins, des Cobayes, tantôt des cultures, tantôt de la Morue rouge. A aucun moment ne se manifesta d'accident. Le Cobaye est même demeuré insensible aux inoculations sous-cutanées ou intra-péritonéales.

Mais est-ce toujours ce Bacille inoffensif qui occasionne le rouge de la Morue ?

LE DANTEC n'a pas retrouvé ce Bacille d'une façon constante dans la morue rouge. En effet, quelques années après cette découverte, il voulut par curiosité rechercher, sur des morues rouges des pêches de Terre-Neuve, le Bacille sporulé qu'il avait décrit comme agent érythro-gène. Cette fois, il ne trouva plus le Bacille sporulé, qu'il avait signalé dans son premier mémoire. Re commençant ses essais de culture et d'isolement, il finit par signaler un autre microbe non sporogène.

BACILLE NON SPOROGENE DE LE DANTEC. -- Isolement. — Voici la formule d'un bouillon qui permet d'obtenir d'emblée une culture presque pure :

Morue : 20 grammes.

Sel blanc : 80 grammes.

Eau : 200 grammes.

Il suffit d'ensemencer un peu de morue rouge dans un tube, contenant ce bouillon stérilisé, pour voir apparaître sur celui-ci un voile rouge, après 5 à 10 jours. Le

voile est d'autant plus rouge que la culture est plus pure.

Pour obtenir une culture pure, il faut faire un passage (1) sur un milieu solide (sérum, gélatine) saturé de sel.

Morphologie. — Le Bacille mesure de 2 μ à 15 μ de long (2). Il est quelquefois filamenteux. Il ne semble pas renfermer de spores, car il est tué par un chauffage d'une minute à 68° — 70° C.

Immobile dans le magma rouge de la Morue, il devient légèrement mobile quand il est cultivé en milieu liquide salé.

Il se colore par les couleurs d'aniline mais ne prend pas le GRAM.

Culture. — Le milieu de prédilection est la morue salée. Sur ce terrain, le Bacille érythrogène est accompagné de plusieurs espèces microbiennes, Coccobacilles ne prenant pas le GRAM, Bacille long et trapu prenant le GRAM, Sarcines. Tous ces micro-organismes paraissent jouer vis à vis du Bacille érythrogène asporulé, un rôle de microbes favorisant sa culture et sa production de pigment. C'est un exemple d'association fréquent en microbiologie.

Les milieux chlorurés par un sel autre que le chlorure de sodium ne permettent pas la culture du Bacille du rouge. L'accoutumance de ce Microbe au chlorure de sodium apparaît comme un caractère spécifique.

Pigment. — Cette salinité collabore à la fabrication du pigment, plus abondant en milieu salé. Mais la morue rouge perd sa coloration par une exposition prolongée à l'oxygène de l'air, bien que le Microbe ne soit pas mort. En effet, LE DANTEC a pu l'isoler d'une Morue qui était demeurée un an à l'air libre. Au point de vue expérimental, ce Bacille asporulé ne possède aucun rôle pathogène.

(1) En partant du voile rouge.

(2) Ces variations de longueur nous paraissent tout à fait anormales. Il est vraisemblable que l'auteur n'a pas utilisé des colorations qui permettent de mettre nettement en évidence les cloisons de division.

Pseudomonas. — Enfin nous mentionnerons la conception de HARRISON et KERMEDY. Ces auteurs trouvèrent un germe qui se présente soit sous la forme d'une sphère, soit sous celle d'un bâtonnet, selon la concentration en sel marin. Ils proposèrent de le nommer « *Pseudomonas salinaria* ». Nous ne nous arrêterons pas à discuter cette opinion imprécise dans sa relation. Si le *Pseudomonas* existe, il doit être rare, car nul autre ne l'a signalé.

Résumé. — Tels sont les Bacilles trouvés dans la Morue rouge.

1^o *Bactérie chromogène* de GAYON et CARLES.

2^o *Bacillus rubescens* EDINGTON.

3^o Bacille rouge de Terre-Neuve de LE DANTEC.

4^o Bacille érythrogène de LE DANTEC.

Discussion. — Le *Bacillus rubescens* D'EDINGTON semble être identique à la Bactérie chromogène de GAYON et CARLES et au Bacille érythrogène de LE DANTEC.

Quant au Bacille rouge de Terre-Neuve de LE DANTEC il présente des caractères spéciaux qui en font une espèce nouvelle.

Conclusion. — Le rouge de la Morue salée peut donc être le résultat de la présence sur ce poisson de colonies du *Bacillus rubescens* D'EDINGTON et du Bacille rouge de Terre-Neuve de LE DANTEC.

4. — **ALGUES.** — FARLOW, après PAULSEN, alors qu'il recherchait la cause du rouge de la morue salée apparu à Gloucester, pendant les chaleurs, avait trouvé *Sarcina littoralis*.

Mais FARLOW ne reconnaît pas à la Sarcine de rôle prépondérant dans la coloration des poissons, qu'il attribue à une Algue minuscule, *Clathrocystis roseo-persicina* de COHN.

En pratiquant les analyses de morue rouge, beaucoup d'auteurs comme HÖEKE, BECKWITH, retrouvèrent cette Algue.

En 1889, LAYET reconnut comme cause du rouge un élément végétal sarcinoïde, qu'il trouva dans les inters-

tices des éléments musculaires. Ces végétaux apparaissent plus denses à la proximité des cristaux de sel, auxquels ils semblent attachés dans les interstices des muscles striés, où leur emplacement creuse de petites cavités. La description de cet auteur nous permet d'identifier cet élément végétal avec celui trouvé par FARLOW.

Par conséquent l'Algue qui peut produire le rouge de la morue salée doit s'appeler : *Clathrocystis roseo-persicina* COHN.

• 5. — **CHAMPIGNONS.** — D'autres végétaux ont été considérés comme cause du rouge de la morue salée. SACCARDO et BERLÈSE l'attribuent à *Torula pulvinata*, HAYE à *Torula épizoa*.

MÉGNIN en 1884 avait examiné des échantillons de Morue rouge soupçonnée d'être la cause d'empoisonnements non mortels. Il y trouva un Champignon du genre *Coniothecium*. FONSSAGRIVES et BÉRANGER-FÉRAND rattachèrent la coloration rose à la présence du *Penicillium roseum*. Tous ces végétaux : *Torula*, *Coniothecium* *Penicillium* se rencontrent fréquemment sur les morues. Si, dans certains cas étudiés par ces auteurs, ces champignons ont pu être la cause du rouge, il faut remarquer qu'ils ne doivent pas l'être la plupart du temps.

6— **ASSOCIATION BACILLO-SPIROCHÉTOSIQUE.** — Une association microbienne, analogue à celle décrite dans l'angine à fausses membranes, fut indiquée par BROWN en 1900. Pour lui, le rouge de la Morue est dû à 2 micro-organismes, un Spirochète qui donne une coloration rose, et un Bacille produisant la teinte carmin. Les deux microbes peuvent se développer simultanément, et alors la pigmentation varie du rose au rouge sombre, suivant la prédominance de l'un ou de l'autre de ces germes.

Les caractères généraux de ce Bacille nous permettent de l'identifier au *Bacillus rubescens* d'EDINGTON. Quant au Spirochète fabriquant du pigment, ce serait un cas unique s'il existe. En effet la Morue qui permet la culture de ces Microbes présente souvent un début de putréfac-

tion. N'est-ce pas dans ce cas que l'on rencontre souvent des Spirochètes ?

Résumé

Faisant abstraction des Champignons, des Spirochètes et des Pseudomonas, qui représentent des causes exceptionnelles, nous pouvons considérer comme agents du rouge de la Morue salée :

1° *Micrococcus littoralis* PAULSEN.

2° *Micrococcus Gadidarum* BECKWITH.

3° *Sarcina littoralis* PAULSEN.

4° *Bacillus rubescens* EDINGTON.

5° *Bacille rouge de Terre-Neuve* LE DANTEC.

6° *Clathrocystis roseopersicina* COHN.

Tels sont les principaux Microbes à qui l'on attribue le rouge de la Morue salée.

Discussion

Existe-t-il vraiment un agent spécifique de la Morue rouge ?

Dans chaque cas particulier, où un savant trouva un Microbe comme cause du Rouge de la Morue, nous ne discuterons pas ses expériences bien établies.

Mais c'est précisément, selon les lieux, une flore différente qui peut occasionner cette coloration du poisson. N'avons nous pas vu LE DANTEC trouver une fois un Bacille sporulé, et une autre fois un Bacille non sporulé ?

Conclusion

En nous basant sur tous ces faits nous ne pouvons admettre la théorie uniciste. Les germes sont nombreux, qui peuvent occasionner le Rouge de la Morue salée, selon les pays et les lieux de pêche, et la concentration en sel. *L'opinion pluraliste* doit prévaloir. Il ne faut plus parler d'un Microbe unique, spécifique du rouge de la Morue. Comme la putréfaction résulte d'une foule de Bactéries, ainsi la maladie du rouge de la Morue salée provient de nombreux Microbes, dont nous avons

cité les principaux, les plus ubiquistes. Ceux-ci peuvent se développer ainsi dans un milieu salé. Mais encore faut-il que la concentration en sel ne dépasse pas une certaine limite. Dans les bonnes saumures, le milieu ne présente aucun phénomène insolite ; les salaisons de Morue bien conservées demeurent indemnes de toute coloration rouge. Que le milieu de conservation soit dilué, la concentration du sel diminue et permet à certains germes de se développer. C'est ainsi que les Microbes du rouge de la Morue apparaissent. Par leur couleur, ils manifestent *le signe avant-coureur de la pullulation microbienne*.

Le fait avait frappé LE DANTEC qui considérait deux phases dans le rouge de la Morue salée.

Une première phase où le poisson était recouvert d'un enduit non visqueux qui cachait une chair saine et ferme, une deuxième phase caractérisée par la présence d'une matière rouge, visqueuse sur une chair molle qui répandait une odeur repoussante.

Rôle pathogène. — Ces diverses considérations nous permettent d'expliquer les opinions en apparence contradictoires des auteurs, les uns affirmant, les autres niant l'action toxique de la Morue rouge.

Il existe en effet plusieurs relations de cas d'intoxication par la Morue. Nous ne retiendrons que ceux qui concernent la Morue rouge. C'est BERTHERAND qui a signalé le premier cas à Alger en Janvier 1884. HERMANN a constaté un autre cas à Saint-Petersbourg. Il y a eu alors cinq personnes atteintes de malaises passagers et deux décès. En Octobre 1884, à Lorient, 200 hommes furent atteints, mais aucun ne succomba. BÉRANGER-FERRAND, qui rapporte l'observation, n'incrimine pas le rouge, mais plutôt l'altération du poisson.

En effet, tous les médecins qui examinèrent les Morues incriminées rapportent qu'elles répandaient une odeur putride. Dans ces intoxications, la Morue rouge se trouvait à la deuxième période d'altération décrite par LE DANTEC. La Morue était putréfiée. Et alors à côté des

Microbes qui déterminent la coloration rouge se trouve une grande quantité de germes de la putréfaction dont le rôle pathogène est bien connu.

Voyons le rouge de la Morue salée au premier stade décrit par LE DANTEC.

Nous connaissons déjà le rôle inoffensif des germes, auteurs de la coloration. Nous avons vu que des Bactéries administrées à diverses espèces animales par différentes voies ne produisaient aucun accident.

LE DANTEC a fait ingérer à des Chiens des fragments de Morue rouge, sans produire de phénomènes toxiques. LEJEUNE fit manger par un Chien plus de 300 grammes de Morue fortement rouge sans déterminer le moindre malaise.

Les pauvres recherchent la Morue rouge à cause de son prix réduit. Ils la mangent sans préjudice.

LE DANTEC raconte qu'en Guyane les commerçants vendaient la Morue rouge aux nègres qui ne s'en trouvaient pas plus mal.

Mais la Morue rouge représente cependant le résultat d'une pullulation microbienne. C'est une étape entre la Morue saine et la Morue putréfiée. Tous les termes de passages existent. Aussi l'on comprend que POUCHET demanda, en 1885, au Comité Consultatif d'Hygiène de France l'interdiction de la mise en vente de la Morue rouge.

Les raisons de cette demande, pouvaient se résumer dans les conclusions ci-dessous du rapport de GRANCHER paru en 1887.

1° *On ne peut affirmer, en se basant sur le seul fait de la coloration rouge de la Morue, qu'elle est nuisible.*

2° *Cependant cette Morue rouge est plus exposée que la Morue blanche à subir des altérations qui la rendent dangereuse.*

Origine des microbes. — Les Microbes du rouge de la Morue, sans action toxique, ressemblent à des germes saprophytes. Ne sont-ils pas des microbes saprophytes

du sel ? C'est l'opinion de certains auteurs (1), qui reconnurent le sel marin comme cause unique du rouge de la morue salée.

Cette exclusivité du sel marin ne doit pas être conservée. Le rôle de propagateur doit s'étendre à tous les sels ainsi que LASSEUR l'a démontré en 1912 ; il enseigna sur de la Morue stérilisée à l'autoclave à 120° C pendant 30 minutes du sel gemme (2) et obtint après plusieurs jours des colonies rouges. Mais ce propagateur du rouge est-il uniquement le sel ? RANDON a fait à Saint-Pierre Miquelon l'expérience suivante : il fit établir des tas de morue ; l'un fut salé avec du sel ordinaire, c'était le tas témoin, un deuxième avec du sel stérilisé, un troisième avec du sel gemme. Tous ces tas furent placés dans les mêmes conditions d'aération et d'humidité. Or, tous les tas présentèrent des Morues atteintes du rouge.

Cette expérience nous montre donc que les morues pêchées et apportées à l'entrepôt renfermaient déjà les microbes du rouge de la Morue. Le sel ne renferme pas à lui seul la source du rouge.

Ces deux opinions ne sont pas en contradiction. Elles apportent des faits ; mais ces faits, comment devons-nous les interpréter ?

Rappelons-nous les observations des premiers auteurs, qui analysèrent le phénomène du rouge. FARLOW avait trouvé le *Clathrocystis* dans les maisons d'emballage, dans les embarcations où le poisson est déchargé, sur les boiseries, les murs et les planchers. Il affirme que ce Microbe était fréquent dans les marais et les plaines de Gloucester, qu'il était parfois si abondant que les régions d'alentour prenaient une teinte rougeâtre ou pourprée. Il retrouva le *Clathrocystis* dans le sel de cuisine et surtout dans le sel de Cadix. Aussi pour FARLOW, le

(1) BITTING, ANDOUARD, RAPPIN, GROSSERON, SOUBRANE, MARTEL et GERMAIN, FILLON.

(2) De provenance française et étrangère.

Microbe du rouge existe-t-il partout. Cette théorie explique pourquoi la morue stérilisée peut rougir, en présence de n'importe quel sel, et pourquoi le sel stérilisé ou de toute provenance, mis au contact de la morue, ne s'oppose pas au développement *du rouge*, car les sels sont contaminés dans leur pays d'origine. Seule une certaine concentration de sel est importante pour le développement des pigments des Microbes du rouge de la Morue salée. MAMFLE (1919) a démontré que la peptone salée exaltait le pouvoir érythrogène du Bacille pyocyanique. Il semble que dans le cas de la morue salée nous assistions à un phénomène semblable. En effet les morues n'étaient pas rouges avant l'expérience de RANDON, et cependant, elles renfermaient le microbe du rouge, car il suffit d'ajouter du sel, même stérilisé, pour voir apparaître le phénomène du rouge. Ce n'est là qu'une première approximation, car les agents du rouge de la morue peuvent produire des corps colorés en l'absence de Na Cl. D'ailleurs ce n'est pas de cette façon que les électrolytes interviennent dans la chromogénèse. Dans le cas particulier de la Morue le chlorure de sodium ne fait que s'opposer au développement de certaines Bactéries et laisse croître les germes peu sensibles à l'hypertonicité (LASSEUR).

β. — Autres bactéries chromogènes

Ce fait est général. Ainsi certaines Bactéries chromogènes arrivant en contact avec des Morues salées, pourront y vivre, et occasionner l'apparition de colorations variées.

Les Bactéries érythrogènes des eaux causèrent beaucoup d'ennuis aux expérimentateurs qui recherchaient le Microbe du rouge de la Morue salée.

A côté de ces germes chromogènes rouges, LE DANTEC a trouvé d'autres Bactéries chromogènes. Il est fréquent, écrit-il, de rencontrer des Morues de couleur jaune paille. La coloration jaune d'or est beaucoup plus rare. Les

Microbes qu'il a le plus souvent rencontrés sont les suivants :

Coccus à colonie couleur jaune paille. — Ce *Coccus* mesure 2 à 3 μ de diamètre. Ses colonies se développent avec lenteur sur gélatine qui ne se liquéfie pas. Elles sont plus pâles à l'intérieur qu'à la surface de la gélatine.

Coccus à colonie couleur jaune d'or. — Ce *Micrococcus* mesure 2 μ de diamètre. Il ne liquéfie pas la gélatine. Ses colonies sont uniformément jaune d'or, sans autres caractères spéciaux. Le microbe trouble le bouillon, en lui donnant une teinte ambrée.

Coccus à colonie couleur rouille. — C'est sur les Morues très altérées qu'on rencontre ce germe. La couleur de ses colonies rappelle assez bien la coloration que l'on obtient en frottant un morceau de fer rouillé sur une surface blanche. Ce microbe mesure 2 μ de diamètre. Ses colonies paraissent formées de cercles concentriques.

b. — **Microbes chromogènes de la sardine altérée**

D'après les diverses observations faites sur tous les rivages, il semble que tous les poissons salés peuvent offrir un milieu de culture favorable au développement des microbes chromogènes.

Tel est le cas des Sardines. DUBOIS DE SAINT-SÉVRIN a constaté en 1893 dans une usine servant à la préparation des Sardines à l'huile, le développement sur ces poissons de taches rouge vif, dues à un microbe chromogène à identifier avec *Bacillus prodigiosus* (1). Abandonnées à l'air sans être soudées, les boîtes exhalaient une odeur infecte de triméthylamine. L'examen bactériologique y révéla l'existence en grande quantité d'un très petit Cocco-bacille à éléments réunis par couples.

Les panaris, d'ordinaire assez rares chez les soudeurs de boîtes, étaient fréquents dans cette usine. Ensemencé

(1) C'est une race de *B prodigiosus* (LASSEUR).

dans un tube de bouillon et sur plaque de gélatine, le pus de ces panaris donnait une culture rosée qui, ensemencée sur des pommes de terre et sur des Sardines stérilisées à l'autoclave, fournissait au bout de quelques heures une culture abondante d'un rouge carmin vif à odeur de triméthylamine. Ces colonies étaient constituées presque uniquement par les mêmes Coccobacilles qui avaient été *observées directement sur les Sardines*. La fréquence des panaris relevés par DUBOIS DE ST-SÉVRIN suffit pour relever la nature virulente de cette Bactérie, poussée sur les Sardines ayant subi une certaine salaison. Et cet auteur pense que probablement cet agent infectieux secrète une toxine qui a pu occasionner les accidents redoutables qui ont parfois suivi l'ingestion des Sardines.

Nous n'accepterons cette conclusion que sous réserve, ce rôle pathogène du microbe n'étant pas démontré de façon irréfutable.

B. — Microbes chromogènes des viandes salées

Le processus de coloration n'est pas spécial aux poissons. C'est un fait général qui s'observe avec toutes les substances albuminoïdes.

PATOUILLARD, en 1883, observe une coloration rouge à la surface des viandes de porc salé. L'examen bactériologique lui permet de reconnaître la présence d'une Sarcine qu'il identifie avec *Sarcina littoralis* PAULSEN, et d'un Champignon qu'il reconnaît semblable à *Oidium Morrhuae*.

Ce sont là deux Microbes que certains auteurs ont trouvé dans le rouge de la Morue salée. Dans les salaisons de viandes, comme dans celles des Morues, nous reconnaissons des aspects analogues et des causes semblables d'altération. C'est parce que tous les microbes sont sélectionnés par la concentration du milieu en sel.

Outre les viandes et les poissons, il existe encore d'autres substances albuminoïdes animales où le sel

est introduit. Examinons l'action du sel sur les Bactéries du beurre et du fromage.

II. — BEURRE ET FROMAGE

La salaison du beurre et du fromage est, dit-on, le moyen de conservation le plus usité.

Quantité de sel. — Pour connaître l'action du sel dans ces aliments, il importe que nous connaissions la quantité qu'on y introduit ordinairement.

Voici les analyses données par MIQUEL :

a — *Beurres* : beurres demi-sel : 1 à 4 % de sel.
 beurres salés : 2 à 8 % de sel.

b — *Fromages salés* :

 fromages mous, Brie, Camembert :
 3,26 % de sel.

 fromages pressés, Roquefort : 4,21 %.
 Cantal : 2,50 %.

Ici nous sommes loin des concentrations obtenues dans le salage et la saumure des viandes et des poissons, et nous ne serons pas étonnés de rencontrer dans le beurre et le fromage des germes différents de ceux que nous venons de décrire.

1° — BEURRE

Flore bactérienne. — L'analyse bactériologique des beurres a permis de mettre en évidence de nombreux Microbes. ORLA JENSEN étudia la flore obtenue par ensemencement des parties internes et externes des beurres. Les résultats obtenus furent les suivants :

1° — A l'extérieur du beurre se retrouvent :

a — des Microbes liquéfiant la gélatine :

Bacillus fluorescens liquefaciens, *Bacillus prodigiosus*.

b — des Microbes ne liquéfiant pas la gélatine.

c — des Champignons comme *Oïdium lactis*, *Cladosporium butyri*.

2° — A l'intérieur existent des Bacilles lactiques.

Nous avons fait des analyses de beurre et nous pou-

vons confirmer toutes les données ci-dessus. Les échantillons que nous avons examinés provenaient de différentes régions de la France. Dans le beurre frais on comptait souvent de 3 à 50 millions de germes par gramme. Des beurres très vieux ne renferment que quelques centaines de microbes.

II. — FROMAGES

Une étude semblable faite pour les fromages montra des Bactéries nombreuses, ainsi que des Moisissures.

L'écorce des jeunes fromages renferme des milliards de Microbes, le centre des millions. L'optimum de végétation est rapidement atteint, et, au fur et à mesure que la maturation se fait, il y a diminution du nombre des germes.

Certaines Colorations bleues des fromages sont dues à *Bacillus Cyaneo-fuscus*, mais ce germe est très rare et les colorations sont souvent déterminées par des Moisissures.

La présence de tous ces Microbes s'explique par les manipulations qu'exige la fabrication des fromages. La transformation du gâteau de caséine en ce produit agréable qu'est le fromage affiné, est l'œuvre d'une série de micro-organismes, ferments lactiques, ferments de la caséine, agissant dans des conditions très étroites de milieu, de température et d'humidité. Tous les produits utilisés sont plus ou moins souillés, si bien qu'il arrive que le produit obtenu ne rappelle plus le fromage que par sa forme extérieure ; il renferme toutes sortes de produits amers et odorants. Et cependant on peut dire que, lorsque la fabrication du fromage marche bien, des germes nuisibles et dangereux peuvent exister dans le fromage. Ces germes n'attendent que les conditions favorables à leur développement pour se multiplier. C'est ce que nous vérifions par une mise en culture des différents échantillons.

Rôle pathogène. — Tous ces Microbes peuvent être considérés comme organismes saprophytes. Leur inges-

tion quotidienne ne provoque pas d'accident.

Cependant il arrive que de vraies intoxications se produisent. C'est que, à côté de ces microbes banaux, sans pouvoir pathogène, les beurres et les fromages peuvent se contaminer et offrir un bon milieu de culture ou de conservation à certaines Bactéries pathogènes. En effet, la concentration saline est trop faible pour jouer un rôle protecteur important ; si bien qu'on a mis en évidence dans ces aliments les germes suivants : le Colibacille, le Bacille d'Eberth, le Bacille Paratyphique B., le Virus de la Stomatite Aphtheuse, des Streptocoques pathogènes et le Bacille de Koch.

Origine des Bactéries. — Mais doit-on attribuer au sel la présence de ces germes pathogènes ? RAPPIN, GROSSERON, SOUBRANE pensent que tous les faits précédents démontrent le faible pouvoir antiseptique du sel, « *si même le sel n'a pas contribué lui-même à la contamination* ». Il n'est pas douteux que, dans bien des circonstances, ces germes si nombreux proviennent la plupart du sel lui-même. En ce qui concerne les produits de laiterie il est impossible d'admettre les conclusions ci-dessus. Pour qui connaît la traite des vaches, le mode de contamination ne fait aucun doute. Les excréments des animaux, les débris de foin, paille, les poussières des étables, les ustensiles plus ou moins propres, les mains plus ou moins sales des agents de fabrication sont les vraies causes de contamination. Que vient donc y ajouter le sel ? Encore quelques microbes saprophytes à vitalité ralentie. Faible agent de contamination, le sel paraît jouer un rôle bien minime dans l'apport microbien, à côté de toutes les autres causes, beaucoup plus puissantes, que nous venons d'énumérer. Et du reste pourquoi ajoute-t-on du sel ?

Rôle du sel. — On dit que c'est pour conserver les beurres et les fromages et, de fait, ces aliments salés se conservent mieux et plus longtemps que les autres. Tous ces microbes que nous avons mis en évidence sur desensemencements ne produisent pas d'altération sensible,

car le sel peut être bactéricide pour quelques microbes, et frapper d'arrêt plus ou moins absolu le développement des autres. Ainsi, malgré sa faible concentration, le sel, dans ces cas, joue un rôle d'antiseptique.

Mais, que la concentration du sel du milieu nutritif diminue par suite de certaines circonstances physico-chimiques, les germes en état de vie ralentie reprendront peu à peu leur vitalité, et beurres et fromages présenteront des altérations. La proportion du sel est devenue trop faible pour s'opposer à la pullulation des germes.

Croire qu'un sel stérilisé apporterait ici un remède radical au développement des Bactéries, est, à notre avis, peut-être une illusion. Les causes de contamination autres que le sel sont supérieures en nombre et en qualité.

Il faudrait débarrasser les beurres et les fromages de toutes les espèces bactériennes dangereuses, et les remplacer par des ferments utiles et indispensables. Mais pour appliquer cette méthode rationnelle, il faudrait s'attaquer aux causes principales, au lait, à ses manipulations et aux ferments qu'on y a introduits accidentellement. Il n'entre pas dans le cadre du présent travail d'étudier la solution de ce problème.

III. — CONSERVES VÉGÉTALES

Le sel est aussi employé pour la conservation de certaines substances alimentaires végétales, surtout des Haricots verts, des Pojs, des Tomates, des Olives; des Concombres et des Choux.

La choucroute n'est pas autre chose que la conserve de certaines variétés de choux débités en fines lanières salées et mis à fermenter dans des cuves. Il s'y forme de l'acide lactique, qui lui donne son goût sui generis. Ce végétal ainsi conservé est un excellent antiscorbutique. Les Anglais en font de gros approvisionnements pour la Marine. Le Capitaine Cook, pendant une navigation de

3 ans, en fit donner 2 fois par semaine à son équipage, et parvint à ramener tous ses hommes en bonne santé.

Dans ces conserves, le sel entre dans la proportion de $1/10$.

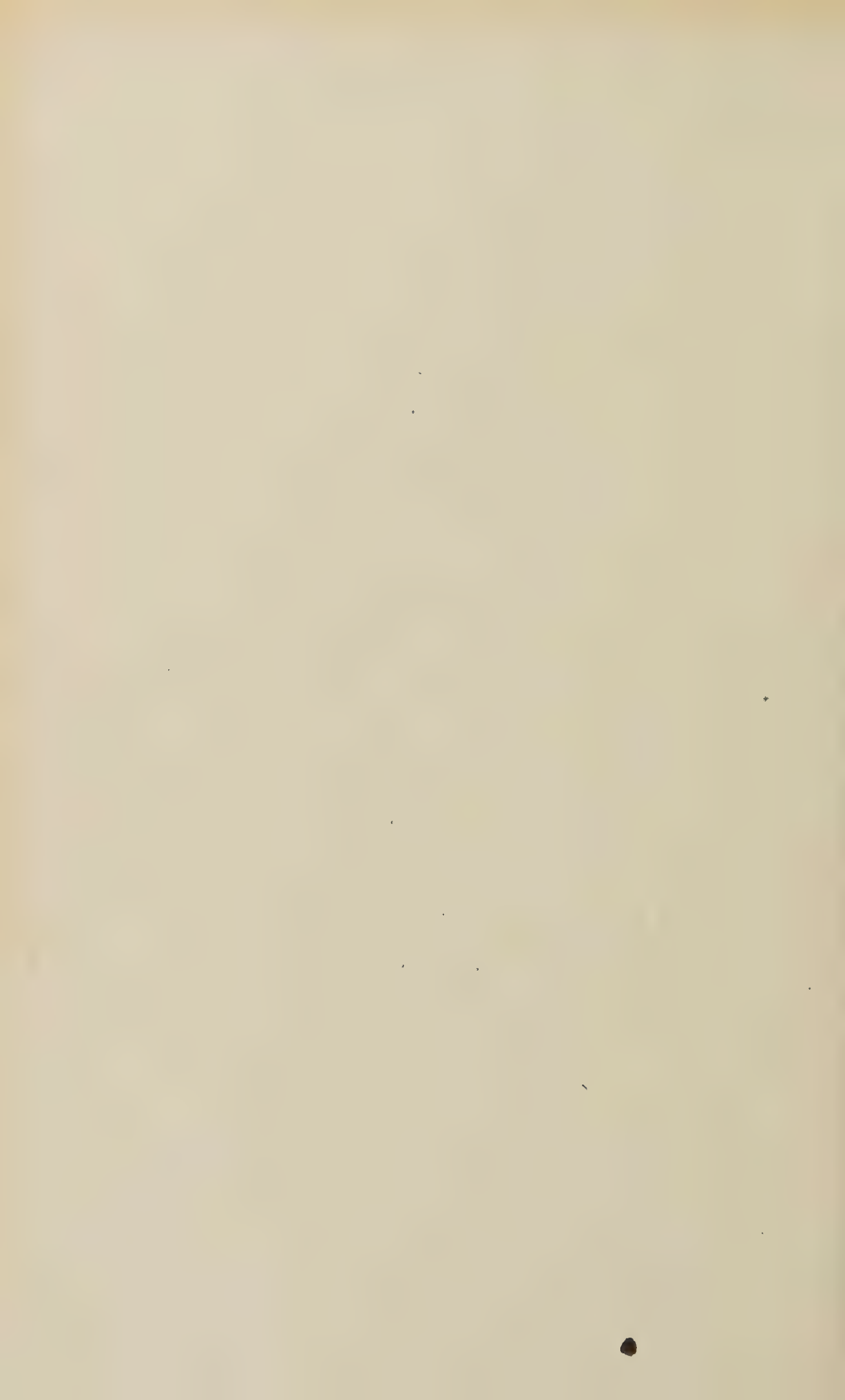
Analysant ces conserves salées, nous avons mis en évidence une quantité formidable de Bactéries, et des plus variées.

D'où viennent ces Microbes ? Le sel en est-il cause ? Nous n'insisterons pas. La vue d'un tas de choux qui pourrissent rapidement nous montre tout ce que ce végétal abritait de Microbes. Et puis au cours des manipulations que de causes de souillures ! pour préparer la choucroute les ouvriers ne prennent aucun soin. Ne les a-t-on pas vu maintes fois entasser les choux, en les pressant au moment de la salaison avec les pieds munis de sabots.

C'est pourquoi nous pensons que l'apport microbien par le sel est infime, vis-à-vis des autres modes de contamination.

Et cependant ces aliments se conservent. Nous voyons encore ici le rôle principal du sel qui est de conserver, c'est-à-dire d'arrêter les processus de décomposition, tout en laissant actives les vitamines. Loin d'apporter un surcroît d'infection, il arrête toute pullulation. L'emploi d'un sel stérilisé nous paraît ici superflu.

Tel est le caractère important du sel employé dans les conserves alimentaires. Cette propriété sembla très importante aux hommes qui tentèrent de l'utiliser aussi dans leurs industries.



CHAPITRE IV

Les Bactéries du sel et des solutions salées employées dans l'industrie

Dans l'industrie on utilise le sel ou ses solutions, pour conserver les bois de construction des navires et des bateaux. Ces bois sont immergés dans l'eau de mer, dans un coin réservé dans chaque arsenal maritime. Quelquefois on injecte aux bois une solution concentrée de sel marin. C'est le cas des bois utilisés pour la construction des traverses de chemin de fer.

Dans l'industrie de la tannerie, le sel fut appelé à rendre de signalés services. La peau et les fourrures brutes, après l'abattage, sont enlevées à l'animal. Elles constituent alors pour les germes de la putréfaction un excellent terrain de culture.

Le sang, la lymphe qui les baignent, le tissu cellulaire qui y demeure adhérent sont des matières nutritives, malheureusement trop appropriées au développement et à la pullulation des germes variés et nombreux qui les contaminent déjà ou qui leur sont apportés par la suite des manipulations plus ou moins propres opérées à ce moment. Elles sont, en outre, souvent souillées par les déjections.

Dans le but d'empêcher toute altération et pour conserver à la peau toutes ses qualités, on utilise le sel. Le salage s'exécute soit après dessiccation (1), soit aussitôt après l'abattage. Alors, le sel est répandu sur la surface sanglante, ou « *côté chair* », à raison de 8 à 10 % du poids total de la peau. Souvent les industriels utilisent le même sel à plusieurs reprises, ou bien le sel désigné ordinairement sous le nom de « *coussins* » et ayant préalablement servi au salage des Morues.

(1) Au Maroc, en Algérie, au Pérou, au Tonkin.

Quels sont les Microbes de ce sel ? Nous avons tenté la numération des germes contenus dans le sel qui a servi. Malgré le titre étendu des dilutions employé pour les cultures, nous avons échoué dans deux essais. Dès le 2^e jour, après l'ensemencement, les plaques de gélatine étaient liquéfiées et ce fait empêchait toute numération.

Parmi ces Microbes peuvent exister des espèces pathogènes par suite de contamination spéciale. Les cas d'infection charbonneuse, par exemple, observée chez les ouvriers qui manipulent les peaux relèvent de cette cause. Ces faits de contagion sont reconnus comme des maladies professionnelles. Nous-mêmes avons pu démontrer l'existence de la spore de la Bactéridie charbonneuse, sur les peaux conservées de cette façon.

En raclant les taches et piqûres qui détériorent les peaux : RAPPIN, GROSSERON, SOUBRANE ont mis en évidence la présence de plusieurs espèces microbiennes parmi lesquelles un Microcoque, deux espèces Bacillaires et un Streptothrix.

Ces mêmes auteurs semblent attribuer au sel l'origine de la plus grande partie de ces microbes et de leurs méfaits. Est-ce une accusation bien fondée ? Rappelons-nous les diverses contaminations auxquelles sont soumises les peaux, déjà elles-mêmes infectées. Qu'un sel malpropre apporte une petite dose de Bactéries saprophytes, c'est possible. Mais qu'est-ce donc, à côté des autres germes venus des peaux, des manipulations, des locaux, de l'air ? Quant au Streptothrix, cause possible des taches des peaux, son rôle est à démontrer. Les expériences d'inoculation, toutes les tentatives pour reproduire ces altérations des peaux en partant du Streptothrix, furent vaines jusqu'à ce jour.

Malgré tout, le sel semble jouer un rôle utile, puisqu'il est capable de conserver les peaux et les fourrures. Celles-ci sans adjonction de sel, manifesteraient vite des signes de décomposition. Le sel arrête donc le développement de différents microbes, peut être même en

détruit-il certaines espèces. Certes, ce pouvoir bactéricide doit être faible, puisque les solutions utilisées renferment de nombreux Microbes ; mais leur développement est entravé quelque temps ; et les peaux se conservent, tant que la concentration en sel ne diminue pas. Si ce fait se réalise, la saumure devient alors un bouillon de culture. Nous retrouvons ici les mêmes relations entre le sel et les Bactéries, que dans les autres milieux salés.

Hypothèse sur les relations entre le sel et les bactéries

Tous ces faits d'observations nous permettent de tirer quelques conclusions sur les rapports du sel et des Bactéries.

Le sel et ses solutions renferment des Microbes plus ou moins nombreux. Lorsque la quantité de sel du milieu atteint un certain taux, la croissance des Microbes diminue ; par contre, l'abaissement de la concentration ramène un développement microbien abondant.

Parmi ces germes, certains sont détruits. En effet, tous les microbes que le sel en ses solutions concentrées peut héberger au cours des multiples manipulations, ne persistent pas, mais disparaissent en partie. Mais certaines bactéries, possédant des formes de résistance, demeurent au sein des salaisons. La mise en culture de divers échantillons de sel révèle la présence de nombreuses variétés de Bactéries.

Nous pouvons donc concevoir le sel et ses solutions comme des milieux qui offrent aux microbes des possibilités spéciales de vie. Le sel, même en solution concentrée, ne semble pas détruire certains germes, tandis que d'autres sont tués rapidement. Enfin beaucoup de germes sont frappés d'un arrêt complet dans leur développement, mais ne sont pas tués pour autant et se développent, dès que les conditions de vie redeviennent favorables.

Nous allons vérifier cette hypothèse que nous avons tirée des faits d'observation. Pour cela nous étudierons les relations du sel et des Bactéries, en utilisant des milieux où tous les éléments sont exactement définis. De cette façon, nous pourrons établir de manière précise la microbiologie du sel, et déterminer par suite son pouvoir antiseptique.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'ACTION DU SEL SUR LES BACTÉRIES

Pour nous rapprocher autant que possible des phénomènes tels qu'ils se passent dans la nature, nous étudierons l'action du sel sur les Bactéries et l'action d'un mélange de sel et de sels alcalino-terreux tel qu'il s'en produit dans les saumures.

CHAPITRE I

Action du sel sur les Bactéries

Nous étudierons l'action du sel sur diverses Bactéries cultivées dans les milieux usuels, puis sur les Bactéries existant dans les milieux tels que : l'eau, la terre, l'air, et enfin sur les Bactéries groupées sur un substratum nutritif, comme les viandes et les poissons.

I. — ACTION SUR LES BACTÉRIES CULTIVÉES EN MILIEUX USUELS

Selon les milieux, certains Microbes présentent des formes de résistance. Nous connaissons des Bactéries produisant des spores et d'autres qui n'en produisent pas.

A. — MICROBES ASPOROGÈNES

La Bactérie asporogène ne présente que des types de formes très voisines dans les milieux de culture, ce qui en simplifie l'étude.

1. Tout d'abord nous ferons l'étude du *Bacille pyo-*

cyanique. L'histoire de ce germe nous *donnera la méthode générale*, pour déterminer l'influence du sel sur les Bactéries. Autrefois certains auteurs, et des meilleurs, comme WASSERZUG, qui étudièrent cette question, apportèrent des résultats discordants. C'est que leurs méthodes étaient différentes. Et en particulier, ils négligeaient un facteur très important, *la quantité de semence*. MAMELLE tout le premier, dans un travail effectué au laboratoire du Professeur LASSEUR, mit en évidence cette notion fondamentale, que nous avons retrouvée dans les expériences de ceux qui s'occupèrent de la question.

Partant d'une culture primitive à nombre de germes défini, MAMELLE observa les variations suivantes.

A 6 % de chlorure de sodium, la culture montrait toujours un accroissement du nombre de Microbes à partir du 5^e jour.

A 7 %, le nombre des germes vivants diminuait de façon intense pendant les quinze premières heures, surtout pendant la première demi-heure. Dès la quinzième heure il ne cessait de croître.

A 8 %, dans un cas il y avait décroissance du nombre des Microbes vivants jusqu'à la 24^e heure, et au bout de 4 jours tous les germes étaient morts. Par contre, dans un autre cas où le nombre des Bacilles était plus élevé, une partie de ceux-ci succombèrent pendant les 6 premières heures, mais les survivants produisirent ensuite une grande pullulation. Donc, on peut dire que pour une concentration saline de 6 %, il y a toujours développement des Bacilles dans la peptone salée. Le développement à 7 % et même à 8 % de sel est subordonné à la plus grande richesse de la semence.

Enfin à 9 %, *on ne constate jamais de développement microbien*. Si l'on ne considère plus le développement, mais la survivance, il reste des germes vivants pendant plusieurs semaines, quand les taux de chlorure de sodium atteignent 7 et 8 % et que le nombre des microbesensemencés est considérable. *Enfin aux concentrations de*

9 et 10 % de sel, on ne trouve jamais de *Bacilles* vivants après 3 ou 4 jours.

Ainsi le point osmotique ou concentration limite de la végétation est 6, 7, ou 8 selon le nombre de germesensemencés.

Connaissant cette méthode de travail nous allons énumérer les caractères de différentes Bactéries asporogènes.

2. *Le Colibacille* présente un optimum de développement dans un bouillon salé à 2 %. Nous avons constaté un arrêt de son développement quand la concentration atteint 5 %. A 8 % de sel, le milieu ne renferme plus de germes vivants.

Dans l'eau physiologique à 9‰, DUTHOIT a constaté la mort des Microbes après 24 heures de séjour dans ce liquide salé (1).

3. *Le Bacille d'Eberth* placé dans l'eau physiologique à 9‰ est tué, après un contact de 24 heures (DUTHOIT).

Cultivé en bouillon salé à 1 %, nous observons un maximum de développement qui s'arrête pour une concentration en sel de 2 %. Quant à la limite de sa survivance, FORSTER a trouvé dans une solution concentrée des *Bacilles* vivants après 21 jours de contact. DE FREYTAG a observé la mort de ces germesensemencés en solution saline concentrée après 5 mois.

4. *Le Bacille paratyphique A* meurt, selon DUTHOIT, en 6 heures 30 dans l'eau physiologique à 9‰.

5. Cet auteur a montré que pour le *Bacille paratyphique B*, dans les mêmes conditions, la vitalité ne persiste que pendant 2 heures 30. Pour ce germe l'optimum de développement en bouillon se produit lorsque la concentration en sel atteint 3 à 5 % ; la multiplication s'arrête vers un taux de 8 à 9 %, toute vie ayant disparu du milieuensemencé.

(1) La survivance des Bactéries dans certaines solutions d'électrolytes est sous la dépendance de la neutralisation des ions au sens de LOEB. Les peptones non seulement servent d'aliments, mais jouent le rôle de substances tampons dans l'ionisation des électrolytes.

6. Pour le *Bacille* de GAERTNER, la limite de survivance est atteinte entre 8 et 9 % de sel, le bouillon ne présentant plus de germes vivants.

7. Le développement du *Bacillus botulinus* se trouve nettement entravé par un excès de chlorure de sodium. Dans un bouillon à 6 % de sel, ce Microbe est complètement arrêté dans son développement. Celui-ci ne peut donc se faire dans les bonnes saumures habituelles qui contiennent au minimum 10 % de sel.

8. Le *Vibron cholérique* se développe dans des milieux contenant 7 % de sel. L'arrêt de la végétation a lieu quand le taux de sel atteint 8,5 %. Dans une solution saline concentrée, FREYTAG constate la mort du Microbe en 6 ou 8 heures.

9. Sur deux germes de la putréfaction, le sel montre une action empêchante différente. Ce sont *Proteus vulgaris*, qui ne se développe plus dans un milieu contenant 10 % de sel et *Bacillus fluorescens liquefaciens*, dans une culture renfermant 5 % de chlorure de sodium.

10. Par contre, le *Bacille du rouget* conserve sa vitalité dans un bouillon saturé de sel, même après 10 jours de contact.

11. Dans des conditions identiques de culture (bouillon saturé de sel) le *Bacille diphtérique* conserve sa vitalité pendant 3 semaines.

12. La *Bacille de la Morve*ensemencé sur du sel y résiste 8 à 10 jours (MULLER). Ce Microbe garderait sa vitalité durant 10 à 15 jours dans les solutions concentrées de sel (MULLER).

13. Le *Bacille de la tuberculose* peut conserver toutes ses propriétés pathogènes pendant au moins 2 mois de contact avec une solution concentrée de sel. C'est le résultat des expériences de FORSTER, de FREYTAG et de MULLER.

14. L'action du sel sur le *Pneumocoque* fut très étudiée. STERNBERG essaya en vain de détruire ce Microbe en l'ensemencant dans une solution salée à 5 %.

SHEARER remarqua que les *Pneumocoques* cultivés

depuis longtemps au Laboratoire, devenaient de moins en moins sensibles à l'eau salée, par passage en bouillons salés. Grâce à une véritable accoutumance, les Microbes pouvaient à la longue subsister dans une eau salée, durant un temps 10 fois plus long que les échantillons fraîchement isolés.

Etudiant la végétabilité et la virulence du *Pneumocoque*, GILBERT et CARNOT constatèrent les faits suivants. Les cultures montraient un développement abondant sur les milieux qui contenaient 5 à 8 pour 1.000 de chlorure de sodium. Quand la teneur en sel atteignait 8 à 12 ‰, les cultures s'éclaircissaient de plus en plus. A une concentration de 13 ‰, le développement était nul. Ces auteurs remarquèrent aussi que l'accoutumance du *Pneumocoque* à des solutions salines de concentration croissante avait eu lieu assez rapidement.

La diminution de la multiplication bactérienne coïncide avec l'augmentation de la virulence. Ainsi dans une expérience, l'injection de 1 centimètre cube d'une culture claire de 24 heures en milieu salé à 12 pour 1000 tuait un Lapin de 1900 grammes, en 12 heures, tandis qu'une inoculation dans les mêmes conditions d'une culture plus fournie provenant d'un milieu moins salé, le tuait en 26 heures.

Observant la notion de quantité de semences, DUTHOIR établit des expériences rigoureuses.

Celles-ci permirent de constater qu'il existe pour le *Pneumocoque* un optimum de concentration saline qui permet aux germes une survie plus longue. C'est celui de 3 ‰. Au-dessus et au-dessous, la vitalité du microbe diminue. A 5 ‰ il y a arrêt du développement.

Cet auteur étudie la vitalité des *Pneumocoques* dans l'eau physiologique à 9 ‰ et il constate la stérilité de la culture après un contact de 6 heures 38 minutes.

15. SHEARER avait étudié la résistance du *Méningocoque* à l'eau physiologique à 9 ‰. Après 20 minutes de contact il s'aperçut que la culture était morte.

16. Le *Staphylococcus aureus* dans ces mêmes con-

ditions d'expériences serait tué en 24 heures, d'après les recherches de DUTHOIT. Pour ce Microbe, FABRICKI montra que l'optimum de développement était atteint quand le milieu de culture renfermait 3 % de sel. Tout développement est arrêté à 5 % de sel. Quant à la survivance de ce Microcoque, elle est très longue : dans un bouillon saturé de sel, nous avons trouvé ce Microbe vivant après 20 jours de contact, et DE FREYTAG après 5 mois.

17. Les *Streptocoques pyogènes* paraissent moins résistants. Si FORSTER les retrouve encore, doués de propriétés pathogènes, après un contact de 20 jours avec un bouillon saturé de sel, DE FREYTAG constate la mort de la culture après un séjour de 2 mois.

Telles sont les influences du sel sur quelques Bactéries non sporulées. Le taux maximum de survivance oscille en général entre 8 et 9 % de sel.

Mais certaines Bactéries montrent déjà une résistance quasi illimitée.

B. — MICROBES SPOROGÈNES

Voyons maintenant la résistance de quelques Microbes sporogènes.

1. Le *Bacille du charbon symptomatique* n'est pas détruit après un contact de 248 heures avec du bouillon saturé de sel. Quant aux spores, MULLER constata leur vitalité après plus de 2 ans de contact avec un bouillon saturé de sel.

2. La *Bactéridie charbonneuse*, sous sa forme végétative, présente un arrêt de développement dans le bouillon renfermant 5 % de sel.

Lorsque le sel atteint une teneur de 6 %, tous les Microbes sont tués.

Quant aux spores, leur vitalité est très grande. Dans un milieu de culture renfermant 30 % de Na Cl, nous avons retrouvé vivantes les formes de repos même après 8 mois de contact. Dans un bouillon saturé de sel, DE FREYTAG constata que les spores avaient conservé toute leur *vitalité*.

3. Nous avons étudié deux Microbes, *Bacillus subtilis* et *Bacillus mesentericus vulgaris*, présentant des formes végétatives et des formes de repos. Celles-là sont arrêtées dans leur développement, quand la teneur du bouillon en sel atteint 5 % pour *Bacillus subtilis* et 10 à 12 % pour *Bacillus mesentericus*. Par contre, les spores semblent résister aux milieux saturés de sel.

Ainsi ces Bactéries sporogènes présentent des limites de développement dans leurs formes végétatives, comme les microbes asporogènes. Mais la spore apparaît comme une forme de résistance qui semble défier indéfiniment toutes les concentrations salines. BIDZINSKI (1926), en étudiant l'action bactéricide des sels de cuivre, arrive à des conclusions analogues.

Toutes les Bactéries peuvent, selon leurs modes de vie ou les circonstances physico-chimiques du monde extérieur, se réunir en groupes artificiels.

Etudions l'influence du sel sur ces groupements microbiens.

II — ACTION DU SEL SUR LES MICROBES DE L'AIR, DE L'EAU ET DU SOL

A. — **Sel et Bactéries de l'air.** — La moitié des Bactéries de l'air qui se cultivent sur milieux usuels peuvent acquérir un complet développement dans les milieux nutritifs renfermant 3 % de sel de cuisine.

De très nombreuses Bactéries chromogènes de l'air, à pigment rouge ou jaune, sont favorisées dans leur accroissement par l'addition d'une quantité convenable de chlorure de sodium aux milieux de culture. C'est notamment le cas de *Sarcina lutea*.

MIQUEL rechercha quelles étaient les doses de sel (en bouillon salé) capables d'arrêter la fertilisation des germes atmosphériques. Il trouva que le pouvoir fertilisant du chlorure de sodium croît de 0 à 8 ‰, puis décroît de 8 à 30 ‰; au-delà, le sel manifeste une action toxique qui augmente jusqu'à 165 ‰. Le bouillon contenant cette

proportion de chlorure de sodium s'oppose à la multiplication des Bactéries.

B. — **Sel et Bactéries de l'eau.** — Ici nous distinguons l'action du sel sur les Bactéries de l'eau douce et sur celle de l'eau de mer.

a. — *Sel et Bactéries de l'eau douce.* — Les cours d'eau renferment de nombreux Microbes. Fox avait remarqué qu'une quantité de sel supérieure à 5 % pouvait déterminer dans cette eau une réduction considérable du nombre des germes. Le Colibacille, qui s'y trouve souvent, serait arrêté dans son développement, ainsi que de nombreuses Bactéries, avec un taux de 4,5 % de sel.

Parmi les Bactéries des eaux conduites, SPERLICH a trouvé de nombreuses espèces halophiles, *Bacillus radi-cosus*, *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus*, *Sarcina rosea*, *Micrococcus luteus*. Le développement de ces Microbes est déjà sensiblement favorisé par une teneur en sel de 0,5 %.

Cet auteur a déterminé pour quelques espèces l'optimum de concentration qui permet d'obtenir le maximum de croissance, entre 2 et 3 % pour *Sarcina rosea* ; 3 et 5 % pour *Micrococcus luteus*.

L'influence du sel marin se manifeste non seulement par une augmentation de l'énergie de croissance des Microbes, mais par une exaltation de la fonction chromogène, notamment pour *Sarcina rosea* et *Micrococcus luteus*.

Continuons à augmenter les doses de sel, et nous voyons tout développement s'arrêter pour des concentrations de 6 à 10 % de sel.

b. — *Sel et Bactéries de l'eau de mer.* — La résistance de la flore bactérienne à des concentrations variées de sel fut étudiée par COUPIN ; ce savant isola 10 espèces de l'eau de mer et les conserva en cultures pures. Prises au hasard parmi beaucoup d'autres, elles représentent vraisemblablement la moyenne des résultats qu'on aurait obtenus en étudiant toutes les espèces marines.

Il procéda à cette étude en ensemençant les germes

dans une solution peptonée (1) additionnée de quantités croissantes de chlorure de sodium.

COUPIN recherche d'abord la concentration *maxima de sel marin* que les Bactéries peuvent supporter. Voici ses résultats :

	Concentration	
	limite permettant le développement	minima s'opposant au développement
<i>Bacillus arbusculus</i>	8 ‰	8,5 ‰
— <i>inodorus</i>	8 ‰	8,5 ‰
— <i>glycogenophilus</i>	8 ‰	8,5 ‰
— <i>Claraudi</i>	16 ‰	17 ‰
— <i>Niger</i>	10 ‰	10,5 ‰
— <i>ruber-bruneus</i>	10 ‰	10,5 ‰
— <i>pelliculus</i>	10 ‰	10,5 ‰
— <i>Charentei</i>	10,5 ‰	11 ‰
— <i>filamentosus</i>	9 ‰	10 ‰
— <i>rosaceus Niger</i> (2).....	8 ‰	8,5 ‰

D'après ce tableau nous voyons que :

4 Bactéries se sont développées à	8 ‰
1	9 ‰
3	10 ‰
1	10,5 ‰
1	16 ‰

Tous ces germes provenaient de l'Océan Atlantique et se trouvaient donc adaptés à une vie en milieu salé à 2,5 ‰.

Par conséquent toutes ces Bactéries ont supporté une salure 3 à 5 fois plus forte que celle de leur milieu d'origine, l'eau de mer.

Après avoir déterminé cette concentration de maxi-

(1) Solution de peptone à 1 0/0.

(2) Nous laissons à COUPIN la responsabilité de sa nomenclature ; nous nous bornons à relater le travail de cet auteur.

mum, l'auteur rechercha quelle était la plus petite dose de sel qui permet le développement de ces Microbes. À côté du maximum, il mit en évidence *le minimum de salure*.

Les expériences effectuées dans cet ordre d'idées donnèrent les résultats suivants :

4 Bactéries peuvent vivre avec un taux de sel de 0,3 ‰	
5	0,25 ‰
1	0,1 ‰

Ces quantités sont les quantités minima nécessaires à leur développement. Ici nous voyons que les Bactéries peuvent croître dans un milieu dont la salure est dix fois plus petite que celle de leur milieu normal, l'eau de l'Atlantique.

Il existe donc de grandes marges de salure, les Bactéries marines sont capables de supporter 8 à 16 ‰ de sel marin et peuvent se contenter de 0,3 à 0,2 ‰ de chlorure de sodium.

Les Bactéries semblent mieux s'adapter proportionnellement à la sous-salure qu'à la sur-salure. En effet la sous-salure montre une adaptation à un taux de sel 10 fois moindre et la sur-salure à un taux de 3 à 6 fois plus grand. Ces concentrations fortes ou faibles apparaissent comme la limite extrême des variations de l'espèce, qui malgré tout, possède une certaine fixité.

Telles sont les actions du sel sur les Bactéries des eaux.

Etudions maintenant les Bactéries du sol.

c — **Sel et Bactéries du sol.** — Une grande partie *des Microbes du sol*, que l'on cultive sur milieux ordinaires, à température et sous pression d'oxygène normales, parviennent à acquérir un développement complet dans les milieux nutritifs renfermant 3 ‰ de sel de cuisine.

Le sol est le grand réceptacle de tous les détritrus. Le sol est intéressant à cause de la pollution qu'il subit par les matières fécales. *L'action du sel sur les matières fécales* fut étudié par Fox. Cet auteur remarque qu'une concentration de 2 ‰ de chlorure de sodium pouvait

amener une diminution des Microbes des fèces après 24 heures.

Parmi les excréments humains, les crachats où se trouvent souvent les Bacilles de KOCH ont attiré l'attention des expérimentateurs. *L'action du sel sur les crachats à Bacilles de Koch est illusoire.* Ainsi des Bacilles tuberculeux contenus dans des crachats frais ne sont pas détruits par 20 heures de contact avec une solution salée saturée.

C'est le fait que rapportèrent SCHILL et FISCHER.

Dans ce cas les Bacilles pouvaient profiter d'une cuirasse de défense, constituée par les albumines.

Voyons si les albumines animales utilisées comme substratum nutritif par certains microbes, modifient l'action du sel sur les germes.

III. — ACTION DU SEL SUR LES BACTÉRIES GROUPEES SUR UN SUBSTRATUM ALBUMINEUX

MULLER établit que l'addition du sel est capable d'empêcher la putréfaction dans les tissus animaux.

Par une série d'expériences, FILLON montra quelles indications on pouvait tirer de la concentration en sel des tissus. Pour une concentration supérieure à 4 %, la décomposition due aux Bactéries et aux diastases, se trouve notablement retardée. Si le pourcentage en sel atteint 20 %, la décomposition est extrêmement lente. En fait, les phénomènes de décomposition sont arrêtés.

L'addition de sel en nature ou de solutions concentrées de sel à des fragments de muscles provenant d'un animal mort du *Charbon symptomatique*, provoque la formation de spores. Celles-ci conservent dans ces conditions, leur vitalité et l'action pathogènes, au moins pendant 2 ans.

Des fragments d'organes, renfermant du *Bacille de la Morve*, sont placés dans des solutions salées concentrées. Ce Bacille supporte, sans être modifié dans sa vitalité, ce contact pendant 1 à 4 jours.

Dans une viande de Porc envahie par le Bacille du Rouget, PETRI trouva encore des germes vivants après

immersion d'un mois dans une solution concentrée de sel marin.

FORSTER, DE FREYTAG, GALTIER ont montré que le Bacille tuberculeux des viandes résistait plusieurs mois à l'immersion d'une solution concentrée de chlorure de sodium.

Les albumines animales offrent donc à certaines Bactéries un moyen de protection contre l'action toxique du sel.

Dans la nature il existe à côté des Bactéries un *grand nombre de Moisissures*. Celles-ci suivent la fortune de celles-là. Et, qui mieux est, MIQUEL a établi qu'il fallait une dose de 10 à 20 fois plus grande de sel pour tuer les Moisissures.

Telle est l'action du sel sur les Bactéries. Mais si l'on adjoint au sel quelques sels alcalins ou alcalino-terreux, l'action du sel vis-à-vis des Bactéries se modifiera-t-elle? La réponse est affirmative, si les conditions de concentration sont respectées. Cette hypothèse découle naturellement des admirables recherches de LOEB et ses élèves sur la neutralisation des ions.

CHAPITRE II

Action d'un mélange de chlorure de sodium et de sels alcalins ou alcalino-terreux sur les Bactéries.

Certaines espèces bactériennes de l'eau, mises en culture dans une solution peptonée salée, montrent un plus grand développement, si l'on ajoute au milieu une petite quantité de *nitrate de sodium* ou de *potassium*. Ce fait fut publié par SPERLICH.

SHEARER montra qu'une trace de *chlorure de calcium* suffisait pour inhiber l'action toxique d'une solution salée sur une culture de Méningocoque. Cette action est encore rendue plus efficace si l'on ajoute un peu de chlorure de potassium.

Les expériences furent reprises par DUTHOIT. L'eau physiologique à 9 ‰ utilisée par lui recevait une quantité de chlorure de calcium égale à 3 ‰.

Les microbes étudiés furent le *Bacille* de FRIEDLANDER, le *Bacille* D'EBERTH, le *Bacille paratyphique A*, le *Colibacille*, le *Staphylococcus aureus*.

Les expériences ont montré que l'addition d'une telle quantité de chlorure de calcium à l'eau salée ne faisait que retarder l'action de celle-ci. Elle n'empêche point la mort des Microbes, qui survient le 3^e jour pour tous les éléments microbiens. Certaines espèces, *Bacille* D'EBERTH, *Staphylococcus aureus* sont tués après 24 heures de contact. Par contre le *Bacille para A*, et le *Colibacille* ne sont tués qu'après 48 heures. Enfin, le *Pneumobacille* de FRIEDLANDER, le plus résistant, ne meurt qu'après 72 heures.

Au point de vue de l'action neutralisante des ions, il faut bien remarquer que DUTHOIT ne s'est nullement placé

dans toutes les conditions qui lui permettaient de tirer une conclusion. Ce savant aurait dû utiliser un grand nombre de concentrations différentes de CaCl_2 , ce qu'il n'a pas fait.

Si l'on prépare, pour faire ces émulsions, une solution de RINGER, qui renferme : chlorure de sodium, 0,9 ; chlorure de potassium 0,042 ; chlorure de calcium 0,048 ; bicarbonate de soude acide 0,02 ; eau distillée 100 cc., les ensemencements successifs, que l'on pratique quotidiennement sur gélose coulée en boîtes de PÉTRI, montrent que le taux des microbes vivants reste le même pendant plusieurs jours, après lesquels il ne diminue que lentement et progressivement. Ainsi même après 7 jours le Colibacille, par exemple, a conservé le même nombre d'éléments vivants, qu'au début de l'expérience. Les *Bacilles paratyphiques A et B* et le *Bacille* de FRIEDLANDER oscillent encore aux environs de 50 % du taux initial, le *Bacille typhique*, aux environs de 20 %, *Staphylococcus aureus* résiste beaucoup moins, mais il faut cependant 3 jours pour que le nombre des éléments vivants soit diminué de façon appréciable. Des ensemencements plus larges sur bouillon montrent du reste que ces émulsions poussent encore abondamment après 4 semaines.

Comparons ces résultats avec ceux obtenus pour le chlorure de sodium seul. Les émulsions de chlorure de sodium sont pratiquement stériles à la 7^e heure ; pour le chlorure de sodium additionné de chlorure de calcium, elles le sont après 12 ou 48 heures, selon la variété microbienne. Il y a lieu de bien remarquer que nous ne donnons les nombres obtenus avec CaCl_2 qu'à titre d'indication, car on n'a pas fait varier suffisamment les concentrations de CaCl_2 .

Mais, si l'on utilise le liquide de RINGER, pour faire les émulsions, l'intégrité de l'émulsion se maintient pendant bien plus longtemps, au point que l'on peut négliger les variations qui surviennent pendant les premiers jours.

Aux recherches de DUTHOIT, il convient d'ajouter celles de PALGEN (1926). Ce dernier a étudié la survivance des

Bactéries dans l'eau distillée, dans l'eau physiologique (9 ‰) et le liquide de RINGER.

Les essais sur *B. mesentericus* (collection FRAENKEL) lui donnèrent les résultats suivants :

	Numération : Nombre de colonies		
Temps de contact	Eau distillée	Eau physiologique salée 9 ‰	Liquide de RINGER
Quelques secondes	623	791	836
30 minutes	541	665	842
24 heures	418	263	721

Avec *Bacillus pyocyaneus* la destruction des plastides est plus rapide.

C'est ce qui ressort des nombres suivants :

	Numération : Nombre de colonies	
Temps de contact	Eau physiologique	Liquide de RINGER
Quelques secondes	424	501
30 minutes	361	503
24 heures	0	367

La faible toxicité du liquide de RINGER était à prévoir. Elle découlait naturellement des travaux de LOEB : plusieurs électrolytes sont nécessaires à la neutralisation de la toxicité NaCl.

Dans ces liquides, la mort n'est pas liée à une question de pression osmotique au sens isotonique, mais à la toxicité des ions. La survie dans le liquide de RINGER ne s'explique que par l'antagonisme salin.

CHAPITRE III

Conclusions

Telle est l'action du sel ou des solutions salées sur les Bactéries. De cette étude expérimentale il se dégage quelques idées générales.

Sous leurs formes végétatives, toutes les Bactéries sont sensibles à l'action toxique du chlorure de sodium, mais cette sensibilité varie avec l'espèce considérée.

Tous les germes que nous avons étudiés peuvent trouver une protection dans les matières albuminoïdes (1). Soit en réduisant les Bactéries à l'état des spores, soit en les encerclant dans les matières albuminoïdes, le sel atteint d'une façon indirecte le développement des Bactéries. En résumé le sel agit sur les Bactéries, soit en les détruisant, soit en les arrêtant dans leur développement.

Les faits que nous avons réalisés et provoqués expérimentalement, c'étaient aussi ceux que nous avait révélés l'observation attentive des faits.

Notre hypothèse se trouve donc vérifiée.

(1) Les matières albuminoïdes paraissent intervenir par différents mécanismes, absorption d'électrolytes, substance tampon dominant l'ionisation, gangue protectrice. Cette dernière hypothèse est possible, mais peu vraisemblable.

RÉSUMÉ DES FAITS ET DISCUSSION

A la lumière de cette analyse expérimentale, nous pouvons à présent comprendre les phénomènes que nous avons observés et déterminer de quelle manière on doit envisager la bactériologie du sel.

1° *Le sel renferme bien des Microbes*, puisque nous sommes arrivés à les cultiver et à les déterminer. Or tous ces Microbes ne peuvent provenir que des contaminations de l'air, de l'eau, du sol, des ustensiles, de l'homme.

Il importe donc de prendre beaucoup de précautions dans la fabrication du sel ou son extraction, afin de le souiller le moins possible. Surtout que les eaux-mères ne soient pas polluées par les égouts ou les eaux du port.

2° *Assurément certains Microbes sont tués par le sel*. Nous avons vu en effet que le plus grand nombre des germes sous leur forme végétative ne résistent pas à une concentration saline un peu élevée. Les substances imprégnées de sel se conservent, parce que la putréfaction ne peut s'effectuer dans ces conditions.

3° *Mais cette action toxique ne se manifeste pas également vis-à-vis de tous les germes*. Certains possèdent des formes de résistance qui leur permettent d'échapper à la mort. Parmi ceux-ci se trouvent les germes les plus dangereux, comme la *Bactéridie charbonneuse*. Ce Microbe défie inlassablement toutes les salures. Mais sous cette forme il ne s'accroît pas, si bien que même vis-à-vis de ces germes pathogènes le sel joue un rôle heureux, celui d'*arrêter le développement des microbes*.

Mais ceux-ci n'en existent pas moins dans le sel. Et pourtant nous pourrions en voir la disparition par une surveillance plus attentive et des règles hygiéniques mieux observées. Que la viande, par exemple, ne traîne

pas à terre ; que les hommes n'entassent pas les choux avec leurs sabots.

4° *Que dirons-nous du rouge de la Morue salée ?* A partir d'une certaine concentration, le chlorure de sodium agit comme sélecteur des espèces microbiennes. Or il se trouve que beaucoup de Bactéries chromogènes résistent à l'action toxique du sel. Ceci nous explique pourquoi nous trouvons des Bactéries chromogènes de toutes les couleurs dans le sel et ses solutions. Le rouge de la Morue salée apparaît donc comme un cas particulier de ce phénomène général. Et comme nous l'avons démontré, il peut être dû, selon les temps et les lieux, à plusieurs espèces bactériennes.

Pour l'éviter, la désinfection des usines et des bateaux apporterait le vrai remède.

5° Dans cette étude du sel et des Bactéries, il faut tenir compte de la différence qui peut exister entre les expériences de laboratoire et la pratique des salaisons. Dans ce dernier cas on emploie souvent du sel *très impur qui renferme des sels alcalino-terreux*. Nous avons vu que ces sels diminuaient l'effet bactéricide du chlorure de sodium. Aussi dans la fabrication du sel, il faudrait exiger plus d'attention dans la purification, afin de livrer au commerce des sels moins impurs.

6° Dans tous ces milieux, le sel agit sur les Microbes, soit en arrêtant leur développement, soit en les tuant. De quelle manière ?

Une Bactérie s'accommode bien d'une certaine dose de chlorure de sodium. A ce moment il y a un maximum d'échange entre le milieu intérieur et le milieu extérieur constitutif du Microbe. C'est l'optimum des échanges nutritifs qui est réalisé. Alors la Bactérie se multiplie abondamment.

Mais plaçons des Bactéries dans des milieux de concentration salée croissante. Nous voyons que les échanges osmotiques entrent en jeu. Il faut surtout tenir compte des variations de perméabilité de la membrane sous l'action des électrolytes, ainsi que l'a montré DONNAN.

Les échanges ont lieu suivant un rythme différent pour chaque taux de concentration en chlorure de sodium. Et la mort du Microbe surviendra à des époques variables, qui sont fonction de ces concentrations.

Il existe donc, entre le milieu et le Microbe, des échanges qui font que celui-ci meurt rapidement dans l'eau salée. Mais, pour chaque variété microbienne, il existe un optimum de concentration pour lequel les échanges sont retardés et la vitalité du Microbe plus longtemps maintenue.

L'action toxique du sel ne se manifeste qu'assez lentement : aussi les Microbes émulsionnés dans l'eau physiologique ne subissent-ils au début qu'un dommage minimum. Et ce fait est encore moindre par l'adjonction de certains sels alcalino-terreux.

En effet, si l'on retire à temps ces germes du milieu nocif, par exemple après 30 à 60 minutes, pour les reporter sur un milieu plus favorable à leur développement, milieu à la gélose, ils récupèrent cette vitalité diminuée et s'accroissent normalement. Mais si, au contraire, on a laissé à l'action toxique un temps suffisant pour qu'elle agisse profondément, alors le Microbe est mort et la culture reste stérile.

Enfin les questions de température, de durée, de contact et de nombre des éléments microbiens, sont importantes.

Mais il existe des cas, où tous ces phénomènes transmembraneux se trouvent encore troublés ou empêchés *par la constitution même des Bactéries*. Celles qui possèdent une gangue lipoïde subissent moins l'influence du milieu.

Enfin, les Bactéries peuvent, le milieu devenant mauvais, présenter des formes de résistance, les spores, qui leur permettent d'attendre presque indéfiniment des conditions favorables à leur développement.

Le sel agit donc sur les Bactéries, en modifiant la perméabilité de la membrane. Et ces variations ne sont vraiment troublées que dans les solutions très concentrées de sel.

7° De ces considérations, il découle que le sel possède un *pouvoir antiseptique* net, quand on l'emploie à fortes doses. Du reste son utilisation dans le commerce témoigne de ses précieuses propriétés de conservation des substances putrescibles.

Mais, malgré tout, le sel demeure un antiseptique faible. C'est ce qui explique la flore abondante de saprophytes qu'il peut héberger.

Comment les faire disparaître ?

STÉRILISATION DU SEL

Pour obtenir un sel pauvre en Bactéries, nous avons deux méthodes, soit réaliser la fabrication avec une grande propreté, soit s'attaquer directement aux Bactéries du sel en les tuant à l'autoclave.

1° **Pour fabriquer le sel selon les règles de l'hygiène**, il faut éviter toutes les contaminations que nous avons relevées en étudiant les différents procédés de cristallisation du sel.

Les hommes devront veiller à ne plus souiller le sel. Les locaux et le matériel devront être désinfectés. Si l'on dispose d'un jet de vapeur, on s'en servira pour nettoyer les ustensiles. Les locaux seront parfaitement lavés à l'eau courante, sous pression. De la sorte on obtiendra l'enlèvement des *malpropretés*.

On désinfectera alors le sol, les murs, les cuves, tous les ustensiles employés dans le travail, à l'aide d'une solution d'acide sulfureux à 6 ‰, et l'on appliquera sur les parties à protéger un bon lait de chaux.

Il faudrait raffiner le sel à une température un peu plus élevée (1). Et, en tout cas, le recueillir et le conserver aussi aseptiquement que possible.

Mais ces précautions sont d'une réalisation difficile à l'heure actuelle.

2° Alors reste un seul moyen plus facile qui s'impose : **c'est la stérilisation du sel au moyen de l'autoclave de GROSSERON.**

De grandes difficultés surgissent pour effectuer la stérilisation du sel.

En effet, avec le chlorure de sodium, il n'est pas possible sans inconvénient, de procéder à la stérilisation selon le mode habituel, c'est-à-dire en envoyant la

(1) Quelques degrés seraient suffisants.

vapeur en contact du produit à stériliser. Car il se produirait une condensation considérable de la vapeur au contact des sacs de sel froid. Cette vapeur condensée détériorerait le produit, en le mouillant.

D'autre part, la vapeur qui se condenserait à la partie supérieure de l'autoclave formerait des gouttes chargées d'oxyde de fer, qui, en tombant sur les sacs, les percerait rapidement.

Le procédé imaginé par GROSSERON permet de résoudre ces difficultés. Nous avons vu fonctionner cet appareil et donner d'excellents résultats.

Description de l'autoclave de GROSSERON

Dans cet appareil, on chauffe le sel enfermé dans l'autoclave, avant que la vapeur ne vienne à son contact.

En pratique on a fabriqué un autoclave spécial à double paroi, dans lequel on peut envoyer de la vapeur de chauffage. Le sel étant renfermé dans l'autoclave avec une certaine quantité d'eau, on envoie la vapeur de chauffage dans la double paroi. La température de l'autoclave et de la matière à stériliser s'élève en même temps, jusqu'au moment où l'eau contenue dans l'autoclave se vaporise et vient au contact du sel à stériliser.

Voici un dessin de ce nouvel autoclave.

La figure N° 1 représente une coupe longitudinale et la figure N° 2 une coupe transversale.

Cet appareil est constitué par une enveloppe *a*, entourée d'une seconde *b*. L'intervalle entre ces 2 enveloppes constitue une chambre annulaire de chauffage dans laquelle on peut envoyer de la vapeur par un tuyau *c*. Un robinet *d* permet d'évacuer l'eau condensée, tandis qu'une soupape permet de limiter la pression.

L'autoclave est fermé par une porte en couvercle à bascule *f* que l'on serre au moyen de boulons et d'écrous à oreilles *g*.

Les sacs à stériliser sont introduits dans l'appareil à l'aide d'un chariot *h* et la porte *f* est refermée. On envoie une petite quantité d'eau à l'intérieur de l'appareil.

Fig. 1

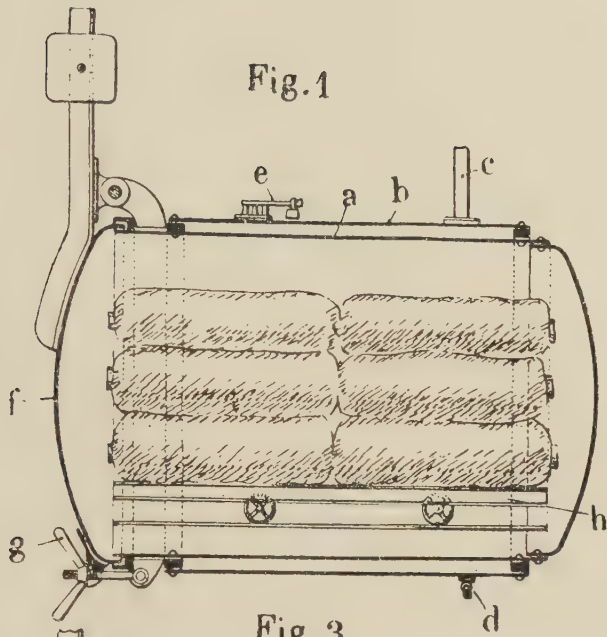
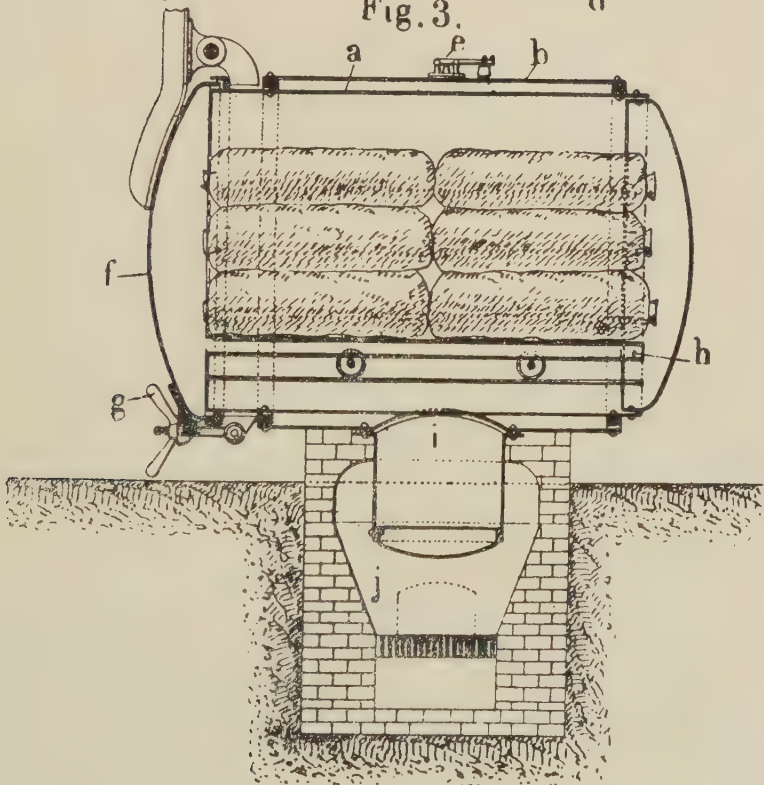
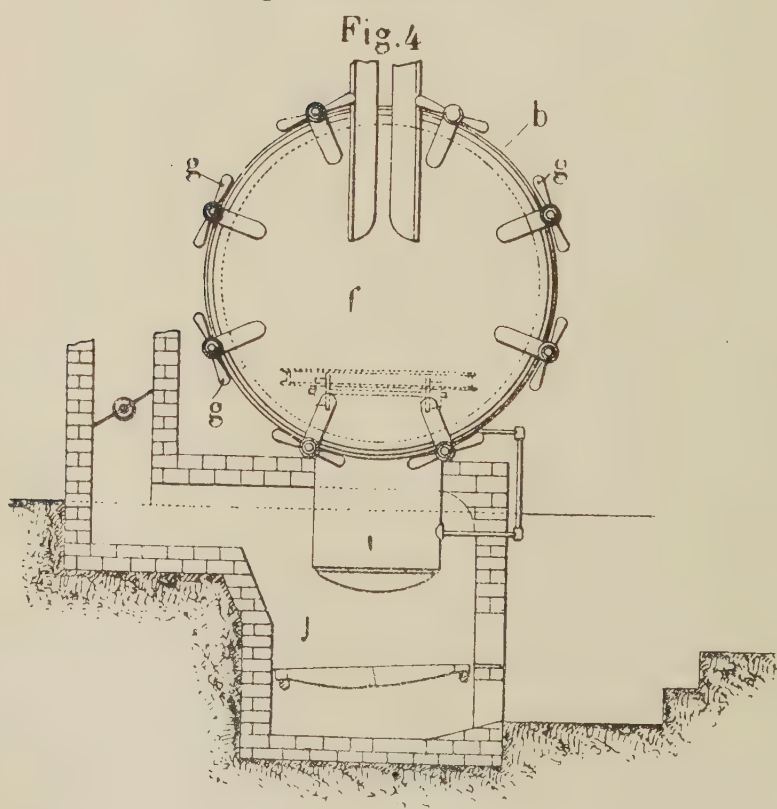
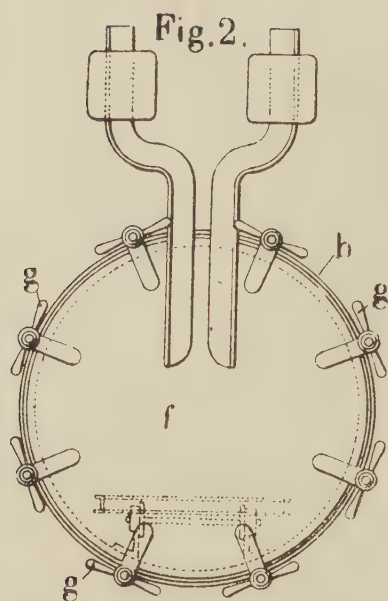


Fig. 3.





reil à l'aide d'un robinet approprié. On fait alors arriver la vapeur par le tuyau *c* entre les 2 enveloppes. Les sacs à sel et l'eau contenue dans l'autoclave s'échauffent en même temps. De cette façon quand cette eau commence à se vaporiser, elle ne peut aller se condenser sur les sacs qui ont la même température qu'elle. Aucune condensation ne pourra se produire autour de l'enveloppe de l'autoclave, car cette enveloppe est chauffée par la vapeur qui l'entoure.

Lorsque l'autoclave a atteint une température déterminée, on peut maintenir cette température pendant la durée nécessaire.

Les figures 3 et 4 représentent un appareil basé sur les mêmes principes, mais disposé pour fonctionner à feu nu.

Dans ce cas l'enveloppe extérieure *b* porte à sa partie inférieure un réservoir *i*, engagé dans le foyer *j*.

Résultats

Après cette stérilisation, nous voyons que le sel n'est pas altéré. Bien au contraire, il subit de ce fait une certaine épuration chimique.

Il est bien entendu que l'on ne saurait stériliser les sacs de sel pesant plusieurs kilos en quelques minutes. Il faut prolonger la stérilisation pendant près d'une heure.

Au point de vue bactérien, le résultat est excellent, puisque, d'après GROSSERON, tous les Microbes sont détruits.

Discussion

Une fois sorti de l'autoclave, ce sel, renfermé dans des sacs à double paroi bien fermés, ne subira plus de manipulations qui lui apporteraient un nouveau contingent de germes variés, comme il arrive aux sels lavés et raffinés, souvent contaminés avant d'être livrés au commerce.

Comparons une recherche des Microbes de ce sel vendu après stérilisation avec celle que nous avons faite après raffinage. Alors que dans le premier cas, des prélè-

vements effectués par RAPPIN et SOUBRANE dans divers endroits des sacs, plusieurs mois après stérilisation, leur ont donné un sel exempt de tout germe vivant, dans le deuxième cas, nous trouvons des Microbes septiques et de nombreuses Bactéries chromogènes.

Conclusion

La stérilisation du sel présenterait donc une réelle utilité si les manipulations à l'ouverture des sacs s'effectuaient de façon aseptique. En pratique nous pourrions obtenir des résultats presque aussi satisfaisants, par un bon raffinage et une conduite des opérations selon les règles de l'hygiène. Il faudrait demander aux industriels de perfectionner leur outillage et donner aux ouvriers une éducation plus complète. C'est en faisant l'éducation du peuple, que l'on pourra s'assurer des progrès réels de l'hygiène.

Les pouvoirs publics ne doivent pas demeurer indifférents à ces grandes questions de salubrité publique.

Et c'est pourquoi la Société des Experts Chimistes de France a transmis ce vœu rédigé par GROSSERON, au Ministre de l'Agriculture le 8 Avril 1925 :

« La Société des Experts Chimistes de France, considérant que les sels marins et de mines naturels, lavés et raffinés, tels qu'ils sont livrés actuellement au commerce, sont contaminés à un haut degré par de nombreux Microbes appartenant pour la plupart aux espèces de la putréfaction.

« Considérant par suite que, livrés dans de telles conditions aux industries alimentaires ou à la consommation directe, les sels peuvent devenir une source de contamination pour les denrées, et que leur emploi dans ces conditions est en contradiction avec les règles de l'hygiène, émet le vœu :

« Que le règlement d'administration publique pour l'application de la loi du 1^{er} août 1905, en ce qui concerne le commerce des épices et des condiments, actuellement à l'étude, vise spécialement le cas du sel et fixe le caractère de pureté à exiger du sel destiné aux usages alimentaires.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au cours de ce travail nous avons étudié la bactériologie du sel, c'est-à-dire les Bactéries qui vivent dans le sel et les solutions salées.

1° Tout d'abord nous avons recherché dans l'épidémiologie du sel, quelques faits attestant la présence de Bactéries dans le sel. Nous n'avons recueilli aucun renseignement.

Ce n'est qu'en 1879 que les Microbes du sel furent étudiés pour la première fois par PAULSEN à l'occasion d'un simple fait commercial, les dégâts importants causés sur les salaisons par le rouge de la Morue salée.

2° Alors nous avons vu de nombreuses recherches *sur les Bactéries du sel et de ses solutions*. Nous avons analysé les sels, gros sel et sel fin, sel lavé et sel raffiné, et nous avons constaté que tous les sels renfermaient des Bactéries.

Parmi celles-ci, les espèces que nous avons observées le plus souvent, sont : *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Bacillus aureus*, *Micrococcus auriantacus*, *Sarcina alba*, *Sarcina aurantiaca*, *Sarcina citrina*, *Sarcina lutea*, *Sarcina rosea*.

Beaucoup de ces Microbes représentent des espèces chromogènes.

En pratique on peut dire que le sel n'héberge que des microbes saprophytes. Tout se passe comme s'il possédait un pouvoir bactéricide vis-à-vis des Microbes pathogènes qui le contaminent à un moment donné.

3° C'est précisément cette croyance à un pouvoir bactéricide qui conduisit les hommes à employer le *sel dans la conservation des aliments*. Nous avons étudié diverses conserves salées.

A. — Nous avons d'abord analysé les saumures des conserves de viandes et de poissons.

a) Quand la saumure était fraîche, nous y avons trouvé des Microbes qui sont surtout des germes sapro-

phytes. Mais, ceux-ci s'y trouvaient à l'état de vie ralentie, puisque la saumure ne se putréfiait pas. Outre ce rôle d'arrêt dans le développement, la saumure peut détruire certains microbes, mais ne semble pas désinfecter les viandes et les poissons contaminés avant leur salaison.

b) Lorsque la concentration en sel diminue, la saumure s'altère. C'est une vraie décomposition. La saumure devient inutilisable et dangereuse. Et viandes et poissons subissent les mêmes phénomènes de putréfaction et de pullulation microbienne. Nous trouvons alors une grande quantité de Microbes variés, en particulier ceux de la putréfaction. La saumure est devenue un bouillon putride, qui occasionna des empoisonnements alimentaires.

c) Entre ces deux états de l'altération des saumures, il en existe un autre, qui se révèle par l'apparition de nombreuses Bactéries chromogènes. Parmi celles-ci, nous avons particulièrement étudié les microbes du rouge de la Morue salée. De tous les faits d'observation il apparait que l'opinion d'une origine microbienne multiple doit prévaloir. Le rouge de la Morue salée résulte de l'action d'un ou plusieurs Microbes ubiquistes dont voici les principaux : *Micrococcus littoralis* (PAULSEN) ; *Micrococcus gadidarum* (BECKWITH) ; *Sarcina littoralis* (PAULSEN) ; *Bacillus rubescens* (EDINGTON) ; Bacille rouge de Terre-Neuve (LE DANTEC) ; *Clathrocystis roseo-persicina* (COHN).

Ces Microbes du rouge de la Morue salée, sans action toxique, ressemblent à des Microbes saprophytes ; mais ils représentent déjà une altération de la Morue qui au stade de putréfaction peut occasionner des empoisonnements.

B. — Nous avons ensuite examiné les Beurres et les Fromages salés. Ils renferment de nombreuses Bactéries. La plupart peuvent être considérées comme saprophytes ; mais quelquefois les contaminations apportent des Microbes pathogènes. Si le milieu se trouve appauvri

en sel, ceux-ci se multiplient, comme dans un milieu de culture, et peuvent devenir la cause de maladies, et même d'épidémies.

C. — Nous avons vu que les conserves végétales salées offraient aux Microbes le même terrain que les conserves ci-dessus.

4° Après ces conserves alimentaires, nous avons porté notre attention sur les produits putrescibles conservés dans le sel par l'industrie, en particulier les peaux et les fourrures. Sans adjonction de sel, celles-ci manifesteraient vite des signes de décomposition. Le sel empêche donc le développement des Microbes de la putréfaction, et, peut-être même, en détruit-il certaines espèces.

5° L'observation de tous ces faits nous conduisit à émettre l'hypothèse que le sel exerçait une action antiseptique, arrêtant le développement de certaines Bactéries et en tuant d'autres.

6° Nous avons vérifié cette hypothèse par de nombreuses expériences. Nous avons étudié l'action du sel sur les Bactéries isolées asporogènes et sporogènes. Mais dans la nature les Microbes se présentent associés : aussi avons-nous étudié l'influence du sel sur les Microbes des éléments sur un substratum spécial, l'air, l'eau, le sol.

Nous avons recherché les modifications possibles du sel sur les Microbes vivant sur un substratum artificiel.

Pour nous rapprocher le plus possible des conditions de milieu ordinaires, nous avons observé l'action d'un mélange de Na Cl et de sels alcalins et alcalino-terreux sur les Bactéries. Ces substances nouvelles semblaient diminuer l'action toxique de Na Cl.

Cette étude expérimentale nous permit de dégager de ces faits quelques conclusions dont voici les principales :

Toutes les Bactéries dans les milieux de cultures ordinaires, sous leur forme végétative, subissent l'action bactéricide du sel à des taux variables selon les espèces, tandis que les spores résistent à toutes concentrations salines. Ces germes peuvent trouver une protection dans

les matières albuminoïdes. Celles-ci forment une véritable gangue, impénétrable au sel, ou à ses solutions, qui créent autour d'elles une vraie barrière s'opposant à leur extension. Soit en réduisant les Bactéries à l'état de spores, soit en les empêchant de se multiplier, le sel atteint d'une façon indirecte leur vitalité.

Ainsi le sel agit sur les Microbes, ou bien en les détruisant, ou bien en arrêtant leur développement.

Nous voyons donc que les faits, que nous avons provoqués par les expériences, répètent ceux que nous avait révélés l'observation.

Ces faits nous apparaissent comme la vérification expérimentale de notre hypothèse.

7° A la lumière de ces expériences, nous avons pu comprendre et expliquer les phénomènes que nous avons observés : pourquoi le sel héberge des Microbes ; comment le sel contaminé n'occasionnait jamais de maladies ou d'épidémies ; quelle est la cause du rouge de la Morue salée ; enfin de quelle façon on pourrait se débarrasser de ses Bactéries.

8° Pour résoudre ce dernier problème, GROSSERON proposa la stérilisation à l'aide d'un autoclave spécial de son invention. A la suite de l'emploi de cet appareil, son auteur publia des résultats intéressants. Mais pour des raisons économiques, ce procédé est très peu usité, et la plus grande partie du sel employé dans l'industrie ou l'alimentation n'a subi que le lavage ou le raffinage.

Et nous avons vu que les nouvelles contaminations de l'emmagasinage et des manipulations ultérieures font apparaître sur ces sels encore de nombreux germes. La différence entre diverses catégories de sels, achetés chez le commerçant, est parfois peu notable. C'est dans le perfectionnement des procédés actuels d'exploitation et l'éducation du peuple que ces problèmes d'hygiène trouveraient une solution.

BIBLIOGRAPHIE

- ARLOIN, CORNEVIN, THOMAS. — Le charbon symptomatique du bœuf, Paris, 1887, p. 148
- BECKWITH, T. D. — The bacteriological cause of the reddening of cod and other allied fish. (*Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. II* Bd. 60, 1911, p. 351-354).
- BIDZINSKI. — Contribution à l'étude de l'action bactéricide des sels de cuivre (*Thèse de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Nancy*, Année 1926-1927, p. 70).
- BITTING, A. W. — La préparation de la Morue et des autres poissons salés pour le marché. Etude bactériologique des causes du rouge. U. S. *Departement of agriculture. Bureau of Chemistry* 1911, *Bulletin* 133.
- COUPIN. — Sur la résistance des Bactéries marines. (*C. R. Ac. Sc.* 1915, *tome* 160, p. 443, séance du 6 avril 1915).
- DUTHOIT, C. R. — De l'action sur différents microbes du chlorure de sodium à 9 ‰ (*C. R. Soc. B.*, t. LXXXIX 1923, p. 548).
- Action sur différents microbes à divers taux de concentration (*C. R. Soc. B.*, t. LXXXIX 1923, p. 550).
 - De l'action sur différents microbes du chlorure de sodium seul ou associé à d'autres sels (*C. R. Soc. B.*, t. LXXXIX 1923, p. 553).
- EDINGTON ALEXANDER. — An investigation into the nature of the organisms present in red cod and as to the cause of the coloration (*Sixth. An. Rep. to the Fishery Board for Scotland for 1887-1888*, p. 207-214, *Appendix*).
- FABRICKI. — Contribution à l'étude des vaccins (*Thèse de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Nancy*, 1923, p. 11).
- FARLOW, W. G. — On the nature of the peculiar reddening of salted codfish during the summer season. (*Rep. of the United States. Commission of Fish and Fisheries for 1878-1880*, p. 969-974).
- Vegetable parasites of codfish (*Bull. of the U. S. Fish Commission. Vol. VI*, for 1886-1887, p. 1-4).
- FILLON. — La conservation du poisson par le sel. Le rouge de la Morue salée. (*Office scientifique et technique des pêches maritimes. Notes et mémoires*, N° 38, 1924).

- GILBERT et CARNOT. — Action du chlorure de sodium sur le Pneumocoque et l'infection pneumococcique. Signification de la rétention des chlorures. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LVI, p. 925).
- GROSSERON. — Office national de la propriété industrielle. (*Brevet d'invention*, n° 458.675).
- KARAFFA-KORBUTT. — Zur Frage des Einflusses des Kochsalzes auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen (*Zeit. f. Hyg.* t. LXXI f. I, 1^{er} mars 1912, p. 161).
- KELLERMANN KARL. — Micrococci causing red Deterioration of salted cod-fish. *Bureau of Plant Industry, Washington D. C.* (*Centralblatt für Bakteriologie*, 1914, 11 Abt. Bd. 42, p. 398).
- LAYET-ALEXANDER. — Experimental Hygiene observations on the red flesh of the codfish (*Bull. of the U. S. Fish Commission*, vol. 7, for 1889, p. 90-95).
- LA FRAMBROISIÈRE (Abraham de) — (Les œuvres de) conseiller et médecin du Roy et ordinaire de Monseigneur l'Archevêque duc de Reims, Paris, chez Renauld, Chaudière, rue St-Jacques, à l'escu de Florence, MDCXXXI, p. 100 et 634.
- LE DANTEC. — Etude sur la Morue rouge (Bactériologie, Hygiène, prophylaxie. *Annales de l'Institut Pasteur* 1891, p. 656).
— Le Microbe du rouge de la Morue (*C. R. Soc. Biol.*, 1906, p. 639).
- MAMELLE. — Contribution à l'étude du *Bacillus pyocyaneus erythrogenes* Gessard (*Th. Fac. Pharm. Nancy* 1919, p. 102).
- MARTEL et GERMAIN. — Sur le rouge des salaisons. Isolement de l'agent spécifique. (*C. R. Ac. Médecine*. 27 décembre 1921, p. 437).
- MIQUEL. — Les organismes vivants de l'atmosphère (Paris, 1883, p. 193).
— Manuel d'analyse bactériologique (Paris, 1891, p. 105).
- MIQUEL et CAMBIER. — Traité de Bactériologie pure et appliquée à la médecine et à l'hygiène. *Masson, Paris*, 1902, p. 100.
- MULLER. — Ueber die Behinderung der Fäulnis in Organen durch Kochsalz und die Einwirkung von Kochsalz auf die Vitalität et pathogener Bakterien in tierischen Geweben (*Zeit f. Infekt. und. Hyg. der Haustiere.* f. 1-2, p. 30-53).
- NIKITINE. — Sur la distribution du plankton de la Mer Noire (*C. R. Ac. Sc.*, 9 novembre 1925, p. 655).

- PALGEN. — Essai sur la biologie de quelques bactéries (*Thèse de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Nancy*, 1925, pp. 87-91).
- PAULSEN, V. A. — Om nogh mikroskopiske Planter organismervidensk (*Meddel. pa-d-naturh. Fiver Kiolennen*, 1879-1880, p. 231-254).
- RAPPIN, GROSSERON, SOUBRANE. — Nouvelles recherches sur la flore microbienne du sel marin, 1910. Nantes.
— Les causes des taches du sel, 1912. Nantes.
- SACQUÉPÉE. — Les empoisonnements alimentaires (*Actualités médicales*. Paris, 1909).
- SHEARER. — On the Toxic Action of Dilute Pure Sodium Chloride Solution on the Meningococcus. (*Proceed. Roy. Soc. B.*, t. LXXXIX, mars 1917, p. 440-443).
- SPERLICH. — Ueber Salztoleranz bezw. Halophilie von Bakterien der Luft, der Erde und des Wassers (*Centr. f. Bakt.* t. XXXIV, n° 14-17, 20 juillet 1912).
- VILLIERS et COLIN. — Traité des falsifications.
Tome II, viandes, p. 37, p. 82, p. 119, 1910.
Tome III, aliments lactés, p. 153, p. 200, 1912.
Tome, IV, condiments p. 157. 1914.
- WASSERZUG. — Sur la formation de la matière colorante chez les B. pyocyaniques (*Ann. Inst. Pasteur*. t. I, p. 581-591. 1887).

VU ET BON A IMPRIMER :
Nancy, le 8 Février 1927,
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
L. BRUNTZ.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Nancy, le 9 Février 1927,
Le Recteur de l'Académie de Nancy,
CH. ADAM,
Membre de l'Institut.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	5
INTRODUCTION.....	7
1^{re} PARTIE. — FAITS D'OBSERVATIONS.	
CHAP. I. — Epidémiologie du sel	11
CHAP. II. — Bactéries du sel et de ses solutions ...	15
I. Sel marin.....	15
1 ^o <i>Eaux captées</i>	16
2 ^o <i>Bassins d'évaporation : sels bruts</i>	17
3 ^o <i>Sels lavés et sels raffinés</i>	20
II. Sel gemme.....	22
III. Rôle pathogène des Bactéries.....	24
CHAP. III. — Le sel et les aliments	27
I. Conserves de viandes et de poissons...	27
1 ^o <i>Période de bonne saumure</i>	28
2 ^o <i>Période de saumure altérée</i>	31
3 ^o <i>Période des microbes chromogènes</i>	33
A. Chromogènes des poissons altérés.	34
a. <i>Morues : α. Rouge de la Morue salée</i>	34
— β. <i>Autres Bactéries chromogènes</i> .	52
b. <i>Sardines</i>	53
B. Chromogènes des viandes salées...	54
II. Beurres et fromages.....	55
III. Conserves végétales.....	58
CHAP. IV. — Les bactéries du sel et des solutions salées employées dans l'industrie ...	60
— HYPOTHÈSE SUR LES RELATIONS ENTRE LE SEL ET LES BACTÉRIES	64

**2^e PARTIE. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU SEL
ET DES BACTÉRIES.**

CHAP. I. — Action du sel sur les Bactéries	65
I. Sel et Bactéries isolées : A) <i>asporogènes</i> .	65
— B) <i>sporogènes</i> .	70
II. Sel et Bactéries de l'air, de l'eau et du sol.	71
III. Sel et Bactéries groupées par un sub- stratum albumineux.....	75
CHAP. II. — Action d'un mélange de chlorure de sodium et de sels alcalino-terreux sur les Bactéries	77
CHAP. III. — Conclusions	80
RÉSUMÉ DES FAITS ET DISCUSSION.....	81
STÉRILISATION DU SEL.....	85
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.....	91
BIBLIOGRAPHIE.....	95

ERRATA

Page 10. — 28^e ligne : *au lieu de* action du sel sur les aliments, *lire* : action du sel sur les Bactéries.

Page 12. — 31^e ligne : *au lieu de* mangaient, *lire* : mangeaient.

Page 29. — 4^e ligne : *au lieu de* de Bacille, *lire* : du Bacille.

Page 32. — 23^e ligne : *au lieu de* termo, *lire* : thermo.

Page 44. — 29^e ligne : *au lieu de* uu autre microbe non sprorogène, *lire* : un autre microbe non sporogène.

Page 91. — 19^e ligne : *au lieu de* auriantiacus, *lire* : aurantiacus.

Page 94. — 27^e ligne : *au lieu de* subie, *lire* : subi.

Page 95. — 16^e ligne : *au lieu de* 9 ‰, *lire* : 9 ‰.

